

# Etablierung chemoenzymatischer Totalsynthesen der Jerangolide

Der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften der  
Universität Bayreuth

zur Erlangung des Grades

**Doktor der Naturwissenschaften**

**(Dr. rer. nat.)**

vorgelegte Dissertation

von

**Frederick Lindner, M. Sc.**

geboren in Köln

**2019**

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Januar/2015 bis Dezember/2015 an der Leibniz Universität Hannover und von Januar/2016 bis Juni/2019 an der Universität Bayreuth bei der Professur Organische Chemie (Lebensmittelchemie) unter Betreuung von Herrn Professor Dr. Frank Hahn angefertigt.

*Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth genehmigten Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.).*

Dissertation eingereicht am: 05.06.2019

Zulassung durch die Promotionskommission: 19.06.2019

Wissenschaftliches Kolloquium: 23.10.2019

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Matthias Breuning

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. Frank Hahn (Gutachter)

Prof. Dr. Carlo Unverzagt (Gutachter)

Prof. Dr. Andreas Möglich (Vorsitz)

Prof. Dr. Rhett Kempe

*The Road goes ever on and on  
Down from the door where it began.  
Now far ahead the Road has gone,  
And I must follow, if I can,  
Pursuing it with eager feet,  
Until it joins some larger way  
Where many paths and errands meet.  
And wither then? I cannot say.*

J.R.R. TOLKIEN, *The Lord of the Rings*

## Abstract

### **Development of a chemoenzymatic total synthesis of jerangolids**

Keywords: Jerangolid, Total Synthesis, Biotransformation

The myxobacterium *sorangium cellulosum* produces a series of antifungal polyketides, as for example the family of the jerangolids. The core-structure of the jerangolids features a number of interesting structural motifs. These were the basis to further investigate the biosynthesis of the jerangolids in detail. Especially the enzymes which are responsible for late-stage modifications were closely looked upon. It is presumed that the jerangolids are differentiated from the biosynthetic precursor projerangolid. The modifications yielding the different jerangolids are presumed to be carried out by the *O*-methyltransferase JerF as well as the two RIESKE-oxygenases JerP and JerL.

A total synthesis was developed which gave access to jerangolid E as well as projerangolid to investigate the jerangolid biosynthesis. The route of the synthesis was designed in a way to enable the synthesis of different jerangolid and projerangolid derivatives. Keysteps of the total synthesis of jerangolid E feature an oxa-MICHAEL-addition, a JULIA-KOCIENSKI-olefination and an olefin crossmetathesis.

Furthermore, the expression of the RIESKE-oxygenases JerP und JerL was investigated. The active form of JerP could be obtained by reconstitution and renaturation. In enzyme assays together with the monooxygenase JerO first insights into the catalytic activity of JerP could be obtained.

The successful biotransformation of projerangolid with the *O*-methyltransferase JerF hints strongly that projerangolid is indeed the biosynthetic precursor of the jerangolids. In addition to these findings a broad solvent tolerance of JerF could be observed and an enzymatic cascade for cofactor delivery could be utilized. Further, the first chemoenzymatic synthesis of jerangolid E could be achieved by using JerF for the biotransformation.



## Abstrakt

### **Etablierung chemoenzymatischer Totalsynthesen der Jerangolide**

Schlagworte: Jerangolid, Totalsynthese, Biotransformation

Das Myxobakterium *Sorangium cellulosum* produziert eine Reihe von antimykotisch wirkenden Polyketiden, so auch die Gruppe der Jerangolide. Die Grundstruktur der Jerangolide weist eine Reihe von interessanten Strukturmotiven auf. Dies wurde zum Anlass genommen die Biosynthese der Jerangolide genauer zu untersuchen. Der Fokus lag hierbei auf der Untersuchung der Biosynthese-Enzyme, welche an den späten Schritten beteiligt sind. Es wird davon ausgegangen, dass die unterschiedlichen Jerangolide sich von dem gemeinsamen Vorläufer Projerangolid ableiten. Die weitere Modifikation zu den einzelnen Vertretern der Jerangolide werden vermutlich durch die *O*-Methyltransferase JerF, sowie die beiden RIESKE-Oxygenasen JerP und JerL durchgeführt.

Zur Untersuchung der Jerangolid-Biosynthese wurde eine gemeinsame Synthese für Jerangolid E und Projerangolid entwickelt. Die Syntheseroute wurde so gestaltet, dass sie ebenso Zugang zu diversen Jerangolid- und Projerangolid-Derivaten ermöglicht. Schlüsselschritte der Totalsynthese von Jerangolid E umfassen eine oxa-MICHAEL-Addition, eine JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung, sowie eine Olefin-Kreuzmetathese.

Desweiteren wurde die Expression der RIESKE-Oxygenasen JerP und JerL untersucht. Durch Rekonstitution und Renaturierung konnte JerP in der aktiven Form erhalten werden. In Bioaktivitätstests zusammen mit der Monooxygenase JerO konnten erste Hinweise für die katalytische Aktivität von JerP gewonnen werden.

In Biotransformationen mit der *O*-Methyltransferase JerF wurde die Rolle von Projerangolid als biosynthetischer Vorläufer der Jerangolide bestätigt. Im Weiteren konnte für JerF eine hohe Lösungsmitteltoleranz nachgewiesen, sowie eine Enzymkaskade für die Cofaktorbildung verwendet werden. Diese konnte ebenfalls für die erste chemoenzymatische Synthese von Jerangolid E verwendet werden.

# Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	I
<b>1. EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1 JERANGOLIDE .....	1
1.1.1 Biosynthese der Jerangolide .....	3
1.1.2 Totalsynthesen der Jerangolide .....	7
1.2 RIESKE-OXYGENASEN .....	13
1.2.1 Mechanismus der RIESKE-Oxygenasen .....	14
1.2.2 Biotransformationen mit RIESKE-Oxygenasen .....	21
1.3 SAM-ABHÄNGIGE O-METHYLTRANSFERASEN .....	24
1.3.1 SAM-Analoga .....	26
1.3.2 Cofaktorregeneration für SAM .....	31
<b>2. ZIELSETZUNG .....</b>	<b>34</b>
<b>3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION .....</b>	<b>35</b>
3.1 RETROSYNTHETISCHE ANALYSE .....	35
3.2 SYNTHESE DES OSTFRAGMENTS .....	37
3.3 SYNTHESE DER WESTFRAGMENTE .....	44
3.3.1 Synthese eines alternativen Westfragments .....	48
3.4 JULIA-KOCIENSKI-OLEFINIERUNG .....	56
3.5 OLEFIN-KREUZMETATHESE .....	64
3.7 <i>IN SILICO</i> STUDIEN ZU DEN RIESKE-OXYGENASEN .....	71
3.8 <i>IN VIVO</i> STUDIEN ZU DEN RIESKE-OXYGENASEN .....	73
3.9 <i>IN VITRO</i> STUDIEN ZU DEN RIESKE-OXYGENASEN .....	75
3.9.1 Rekonstitution und Rückfaltung .....	75
3.9.2 Biotransformation von Jerangolid E .....	79
3.10. <i>IN VITRO</i> STUDIEN ZUR O-METHYLTRANSFERASE .....	82
3.10.1 Zeitlicher Verlauf der Enzymreaktion .....	82
3.10.2 Lösungsmitteltoleranz .....	86
3.10.3 Studien zur Enzymkaskade für Cofaktorbildung .....	89
3.10.4 Biotransformation von Projerangolid im semipräparativen Maßstab .....	94
<b>4. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK .....</b>	<b>97</b>
4.1 SYNTHETISCHE ARBEITEN .....	97
4.2 ENZYMATISCHE ARBEITEN .....	98

<b>5. EXPERIMENTELLER TEIL .....</b>	<b>100</b>
5.1 BIOLOGISCHE ARBEITEN .....	100
5.1.1 <i>Material</i> .....	100
5.1.2 <i>Methoden</i> .....	106
5.1.3 <i>In vitro Enzymaktivitätstests</i> .....	109
5.2 CHEMISCHE ARBEITEN .....	124
5.2.1 <i>Allgemeine Hinweise zu den chemisch-synthetischen Arbeiten</i> .....	124
5.2.2 <i>Synthetische Vorschriften</i> .....	126
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>194</b>
<b>7. ANHANG .....</b>	<b>199</b>
<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>278</b>

## Abkürzungsverzeichnis

% (v/v)	Volumenprozent
18-Krone-6	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecan
Abb.	Abbildung
Ac	Acetyl
ACP	Acyl-Carrier-Protein
Ado	Adenosin
<i>amb</i>	Gene der Ambruticin-Biosynthese
Amb	Proteine der Ambruticin-Biosynthese
Amp	Ampicillin
APS	Ammoniumperoxodisulfat
Äq.	Äquivalent
Ar	Aryl
AT	Acyl-Transferase
ATP	Adenosintriphosphat
BDO	Benzoldioxygenase
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
BT	Benzothiazol
Bu	Butyl
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
CDO	Cumendioxygenase
CoA	Coenzym A
COSY	NMR: Correlation Spectroscopy
CSA	Camphersulfonsäure

DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DH	Dehydratase
DHP	Dihydropyran
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMP	DESS-MARTIN-Periodinan
DMSO	Dimethylsulfoxid
DTT	Dithiothreitol
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EE	Ethylacetat
ER	Enoylreduktase
ESI	electrospray ionisation
<i>et al.</i>	et alii
Et	Ethyl
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FMN	Flavinmononukleotid
g	Gramm
gef.	gefunden
GST	Glutathion-S-Transferase
h	Stunde

Hcy	Homocystein
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
Hex	Hexan
HMDS	Hexamethyldisilazan
HMPA	Hexamethylphosphoramid
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
HSQC	NMR: Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IB	inclusion bodies
IBX	2-Iodoxybenzoesäure
IPTG	Isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactopyranosid
<i>J</i>	NMR: Kopplungskonstante
<i>jer</i>	Gene der Jerangolid-Biosynthese
Jer	Proteine der Jerangolid-Biosynthese
Kan	Kanamycin
kat.	katalytisch
konz.	konzentriert
KR	Ketoreduktase
KS	Ketosynthase
LAH	Lithiumaluminiumhydrid
M	molar
m/z	Masse/Ladung
<i>mar</i>	Gene der Marineosin-Biosynthese
Mar	Proteine der Marineosin-Biosynthese
MAT	Methionin-Adenosyltransferase
mbar	Millibar

MBP	Maltose binding protein
Mcp	Proteine der Metacycloprodigosin-Biosynthese
Me	Methyl
Met	Methionin
min	Minute
mL	Milliliter
mmol	Millimol
MS	Massenspektrometrie
Ms	Mesyl
MT	Methyltransferase
MTAN	Methylthioadenosin-Nukleosidase
Mup	Proteine der Mupirocin-Biosynthese
NAD(P)H	Nicotinamidadenindinukleotidphoshat
NDO	Naphtalen-Dioxygenase
nm	Nanometer
NMO	<i>N</i> -Methylmorpholin- <i>N</i> -oxid
nmol	Nanomol
NMR	nuclear magnetic resonance
NOE	NMR: nuclear overhauser effect
NOESY	NMR: Nuclear Overhauser Enhancment Spectroscopy
NRPS	Nicht-ribosomale Peptidsynthase
NTA	Nitrilotriacetic acid
OD <sub>600</sub>	Optische Dichte bei 600 nm
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PDC	Pyridiniumdichromat
PE	Petrolether
Ph	Phenyl

PKS	Polyketidsynthase
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
PPK	Polyphosphatkinase
ppm	parts per million
PPTS	Pyridinium <i>p</i> -Toluolsulfonat
Prn	Proteine der Pyrrolnitrin-Biosynthese
PT	Phenyltetrazol
quant.	quantitativ
Rap	Proteine der Rapamycin-Biosynthese
Reb	Proteine der Rebeccamycin-Biosynthese
Red	Proteine der Streptorubin-Biosynthese
$R_f$	Retentionsfaktor
Rph	Proteine der Roseophilin-Biosynthese
rpm	Rotationen pro Minute
RT	Raumtemperatur
SAE	<i>S</i> -Adenosylethionin
SAH	<i>S</i> -Adenosylhomocystein
SAM	<i>S</i> -Adenosylmethionin
SDS	Natriumdodecylsulfat
Smp.	Schmelzpunkt
SNAC	<i>N</i> -Acetylcysteamin-Gruppe
STX	Saxitoxin
Sxt	Proteine der Saxitoxin-Biosynthese
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBAT	Tetrabutylammoniumdifluortriphenylsilicat
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl



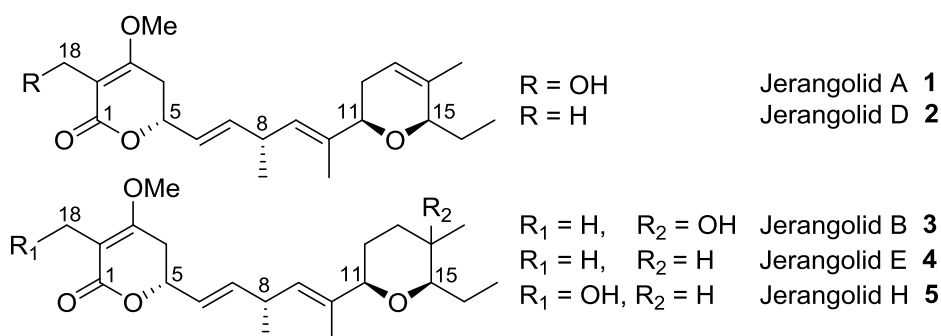
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl
TE	Thioesterase
TEMED	Tetramethylethyldiamin
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxyl
Tf	Triflat (Trifluormethansulfonat)
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyran
TMS	Trimethylsilyl
TPAP	Tetrapropylammoniumperruthenat
$t_R$	Retentionszeit
Ts	Tosyl
UPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography
UV	ultraviolett
V	Volt
z. B.	zum Beispiel
Zers.	Zersetzung
$\delta$	chemische Verschiebung

## 1. Einleitung

Naturstoffe werden von einem Organismus spezifisch für einen speziellen Verwendungszweck hergestellt. Diese Spezifität hebt viele natürliche Wirkstoffe für die potentielle Verwendung für wirksspezifische, pharmakologische Anwendungen hervor. Hierbei kann entweder der Naturstoff direkt zur Anwendung kommen oder es ist möglich die Entwicklung von aktiveren Verbindungen auf dessen Grundgerüst zu basieren. Die Spezifität von Naturstoffen spiegelt sich häufig in ihrem strukturellen Aufbau wieder. Naturstoffe weisen hierbei eine Vielzahl an komplexen strukturellen Eigenschaften auf, welche biosynthetisch durch Enzyme aufgebaut werden. Für deren Aktivität ist eine hohe Regio-, wie auch Stereoselektivität zu beobachten, die auf synthetischem Wege nur schwer zu erreichen ist. Die biokatalytische Anwendung von Biosynthese-Enzymen für die Synthese von Naturstoffen und deren Derivate stellt daher eine hervorragende Alternative zu herkömmlichen Synthesestrategien dar. Um die Nutzung dieser Enzyme zu ermöglichen, müssen sie zunächst identifiziert und charakterisiert werden. Hierfür ist eine genauere Untersuchung ihrer biosynthetischen Rolle unabdingbar.

### 1.1 Jerangolide

Jerangolide sind eine Gruppe antimykotisch wirkender Polyketide (Abbildung 1), die von dem Myxobakterium *Sorangium cellulosum* So ce 307 produziert werden.<sup>1,2</sup>



**Abbildung 1:** Strukturen der Jerangolide.

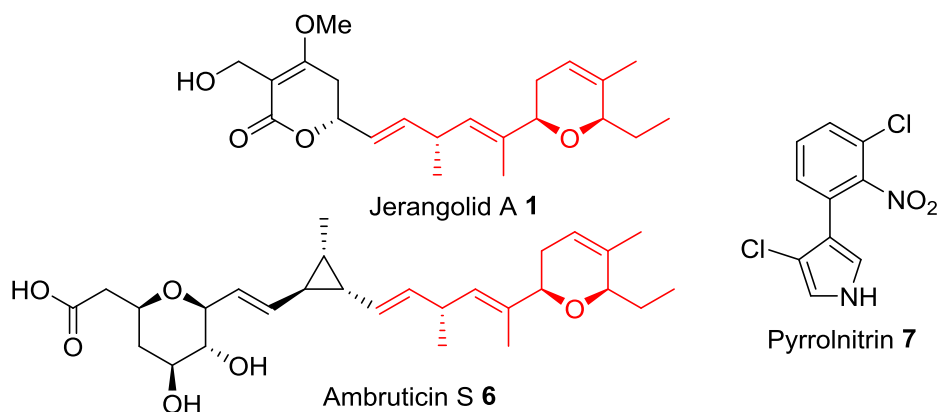
Wesentliche strukturelle Merkmale der Jerangolide sind der dreifach substituierte DHP-/ THP-Ring und das  $\delta$ -Pyranon. Verbunden sind die beiden Ringsysteme über ein an C-8 methylverzweigtes Penta-1,4-dien. Neben der fehlenden Konjugation in der Alkenkette sind die (Z)-konfigurierte-Doppelbindung im Dihydropyranring bei Jerangolid A (**1**) und

<sup>1</sup> H. Reichenbach, G. Höfle, K. Gerth, P. Washausen, *P PCT Int. Appl.* **1997**, WO97/31912.

<sup>2</sup> K. Gerth, P. Washausen, G. Hofle, H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1996**, 49, 71–75.

D (2), sowie die Hydroxy-Funktion an C-18 bei Jerangolid A (1) und H (5) wesentliche Merkmale.

Die Vertreter der Jerangolid-Familie zeigen eine interessante antimykotische Aktivität gegen ein breites Spektrum an Pathogenen.<sup>3,4</sup> Jerangolid A (1) zeigt unter anderem Aktivität gegen *Hansenula anomala* und *Mucor hiemalis* (0.07 µg/mL), *Debaryomyces hansenii* und *Trisporo teresstre* (0.1 – 0.4 µg/mL), sowie *Candida albicans* (4.2 µg/mL). Zudem konnte die Aktivität gegen Kokzidioidomykose (Pilzinfektion, mögliche Lungenentzündung) und Histoplasmose (Pilzinfektion der Lunge) nachgewiesen werden.



**Abbildung 2:** Strukturen repräsentativer Vertreter der Jerangolide und Ambruticine, sowie Pyrrolnitrin. Jerangolid und Ambruticin besitzen identische Struktur motive (rot hervorgehoben). Ambruticin wurde aus *S. cellulorum* So ce 10 isoliert. Pyrrolnitrin (7) konnte in *S. cellulorum* So ce 405 nachgewiesen werden.

Die eng verwandten Ambruticine werden ebenfalls von *S. cellulorum* (So ce 10) produziert und besitzen eine ähnliche Aktivität wie die Jerangolide. Es wird davon ausgegangen, dass aufgrund der strukturellen und biosynthetischen Verwandtschaft zum Ambruticin (Abbildung 2)<sup>5,6</sup> der Wirkmechanismus der Jerangolide einem ähnlichen Prinzip wie dem der Ambruticine folgt.<sup>3,7</sup>

Der genaue Mechanismus ist noch nicht vollständig aufgeklärt, aber es wird vermutet, dass die Histidin-Kinase Hik1 beeinflusst wird. Hik1 ist an der Aktivierung des Hoch-Osmotischen-Glycerin (HOG) Signalwegs beteiligt. Hierbei kommt es zur Akkumulation von Glycerin und freien Fettsäuren. Bei geringer externer Osmolarität resultiert dies in einer

<sup>3</sup> S. M. Ringel, R. C. Greenough, S. Roemer, D. Connor, A. L. Gutt, B. Blair, G. Kanter, null von Strandtmann, *J. Antibiot.* **1977**, 30, 371–375.

<sup>4</sup> G. Höfle, H. Steinmetz, K. Gerth, H. Reichenbach, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 1991, 941–945.

<sup>5</sup> S. C. Wenzel, R. Müller, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, 24, 1211–1224.

<sup>6</sup> B. Julien, Z.-Q. Tian, R. Reid, C. D. Reeves, *Chem. Biol.* **2006**, 13, 1277–1286.

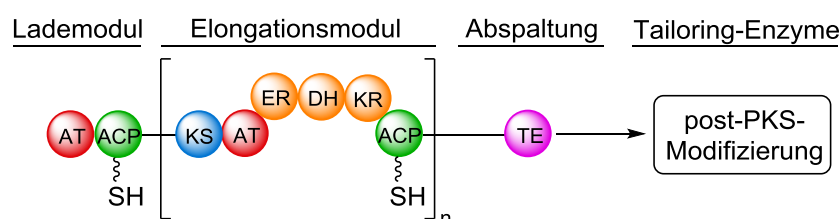
<sup>7</sup> P. Knauth, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **2000**, 53, 1182–1190.

Erhöhung der Permeabilität der Zellmembran, wodurch Zellbestandteile ausströmen und es zum Zelltod kommt.<sup>8</sup> Dieser Wirkmechanismus konnte für Pyrrolnitrin (7) (Abbildung 2), ein weiterer antimykotischer Naturstoff aus *S. cellulorum*, nachgewiesen werden.<sup>9</sup>

Die eingeschränkte therapeutische Bandbreite der zur Verfügung stehenden Antimykotika erschwert die Behandlung von Pilzinfektionen. Als eukaryotische Lebensformen besitzen Pilze große Homologien zum menschlichen Proteom, dadurch sind mögliche Angriffspunkte für neue Wirkstoffe limitiert.<sup>10,11</sup> Da für die Ambruticine gezeigt werden konnte, dass keine signifikante Nebenwirkungen in Tieren bestehen, ist anzunehmen, dass dies ebenfalls für die Jerangolide zutrifft.<sup>12</sup> Jerangolide stellen somit interessante, potentielle Leitstrukturen für die Entwicklung neuer Antimykotika zur Behandlung von humanpathogenen Pilzinfektionen dar.

### 1.1.1 Biosynthese der Jerangolide

Jerangolide werden über eine modulare Polyketidsynthase-Typ I (PKS Typ I) hergestellt. Polyketidsynthasen des Typs I sind aus mehreren Modulen bestehende Multienzymkomplexe. Die einzelnen Module umfassen unterschiedliche Domänen, wobei die Module zusammenhängenden Elongationseinheiten darstellen.



**Abbildung 3:** Schematischer Aufbau einer PKS-Typ I; ER-, DH-, KR-Domänen und andere Domänen können zusätzlich in einem Elongationsmodul vorhanden sein.

Innerhalb jedes Moduls wird durch eine spezifische Acyltransferase (AT) ein Verlängerungsbaustein ausgewählt und mittels einer Ketosynthase (KS) durch eine decarboxylierende CLAISEN-Kondensation mit der vorhandenen Polyketidkette verknüpft. Der Transport der wachsenden Polyketidkette zwischen den aktiven Domänen erfolgt mittels des Acyl-Carrier-Proteins (ACP), wobei das Substrat über eine Phosphopantetheinyl-Seitenkette gebunden ist. Im Gegensatz zu den verwandten Fettsäuresynthasen zeichnen sich

<sup>8</sup> L. Vetcher, H. G. Menzella, T. Kudo, T. Motoyama, L. Katz, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, 51, 3734–3736.

<sup>9</sup> K. Kojima, Y. Takano, A. Yoshimi, C. Tanaka, T. Kikuchi, T. Okuno, *Mol. Microbiol.* **2004**, 53, 1785–1796.

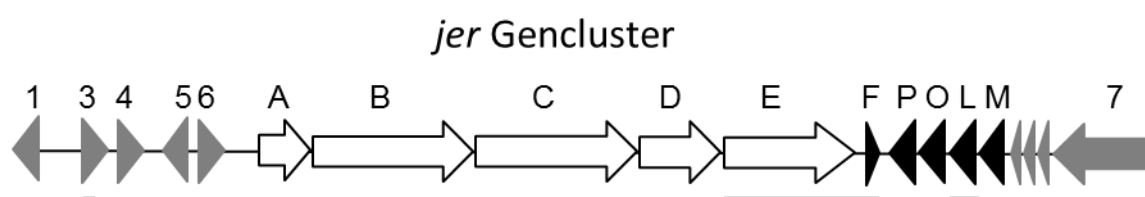
<sup>10</sup> Z.-Q. Tian, Z. Wang, Y. Xu, C. Q. Tran, D. C. Myles, Z. Zhong, J. Simmons, L. Vetcher, L. Katz, Y. Li, S. J. Shaw, *ChemMedChem* **2008**, 3, 963–969.

<sup>11</sup> J. Morschhäuser, *Pharm. Unserer Zeit* **2003**, 32, 124–128.

<sup>12</sup> S. M. Ringel, *Mycopathologia* **1990**, 109, 75–87.

Polyketidsynthasen durch eine hohe Flexibilität bezüglich weiterer Modifikationen der Polyketidkette aus. In der sogenannten reduktiven Schleife wird die schrittweise Reduktion der Carbonylfunktion durch Ketoreduktasen (KR), Dehydratasen (DH) und Enoylreduktasen (ER) katalysiert. Außerdem können auch noch katalytische Domänen auftreten, die methylieren, oxygenieren, halogenieren oder cyclisieren. Eine Thioesterase (TE) spaltet am Ende der Polyketidsynthese die Polyketidkette unter Hydrolyse des Thioesters zum Phosphopantetheinyl-Rest vom Acyl-Carrier-Protein ab. An dem so erhaltenen Polyketidprodukt können durch *Tailoring*-Enzyme zusätzliche post-PKS Modifizierung vorgenommen werden.<sup>13,14</sup>

Ein möglicher Biosyntheseweg für die Jerangolide und die verwandten Ambruticine wurde 2006 von JULIEN *et al.* basierend auf Genclusteranalysen und Intermediaten aus Blockmutanten postuliert. Es zeigte sich, dass eine sehr hohe Homologie zwischen den Ambruticin- und Jerangolidclustern auf genetischer Ebene besteht. Die für einen Großteil der Biosynthese codierenden Gene *jerA-D* und *jerM* sind >90% identisch mit *ambA-D* und *ambM*.<sup>6</sup> Dies ermöglicht Analogieschlüsse für die Biosynthesemechanismen der Jerangolide basierend auf den gewonnenen Erkenntnissen bezüglich der Ambruticin Biosynthese.



**Abbildung 4:** Organisation des Jerangolid Genclusters: PKS-Gene *jerA-jerE* (weiß), Biosynthesegene *jerF, jerP, jerO, jerL, jerM* (schwarz) und Regulatorgene *jerI-jer7* (grau); Sequenzunterschiede zum Ambruticin Gencluster sind durch graue Linien gekennzeichnet. Abb. analog zu JULIEN *et al.*<sup>6</sup>

Der Jerangolid Gencluster besteht aus fünf PKS-Genen (*jerA-jerE*) und fünf weiteren Biosynthesegenen. Diese codieren die Methyltransferase JerM und die *Tailoring*-Enzyme (JerF, JerO, JerP, JerL). In *in vitro* Studien zur Ambruticin Biosynthese konnten HAHN *et al.* die Beteiligung von AmbM an der C-Methylierungs-Olefin-Verschiebungskaskade in PKS-Modul 4 nachweisen. Des Weiteren konnte der Mechanismus der THP-Cyclisierung in PKS-Modul 3, sowie die Stereokonfiguration der Biosyntheseintermediate gezeigt werden.<sup>15,16</sup> Die hohe Sequenzidentität zwischen *jerC-D* und *ambC-D*, sowie *jerM* und *ambM* lässt vermuten,

<sup>13</sup> E. S. Sattely, M. A. Fischbach, C. T. Walsh, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, 25, 757–793.

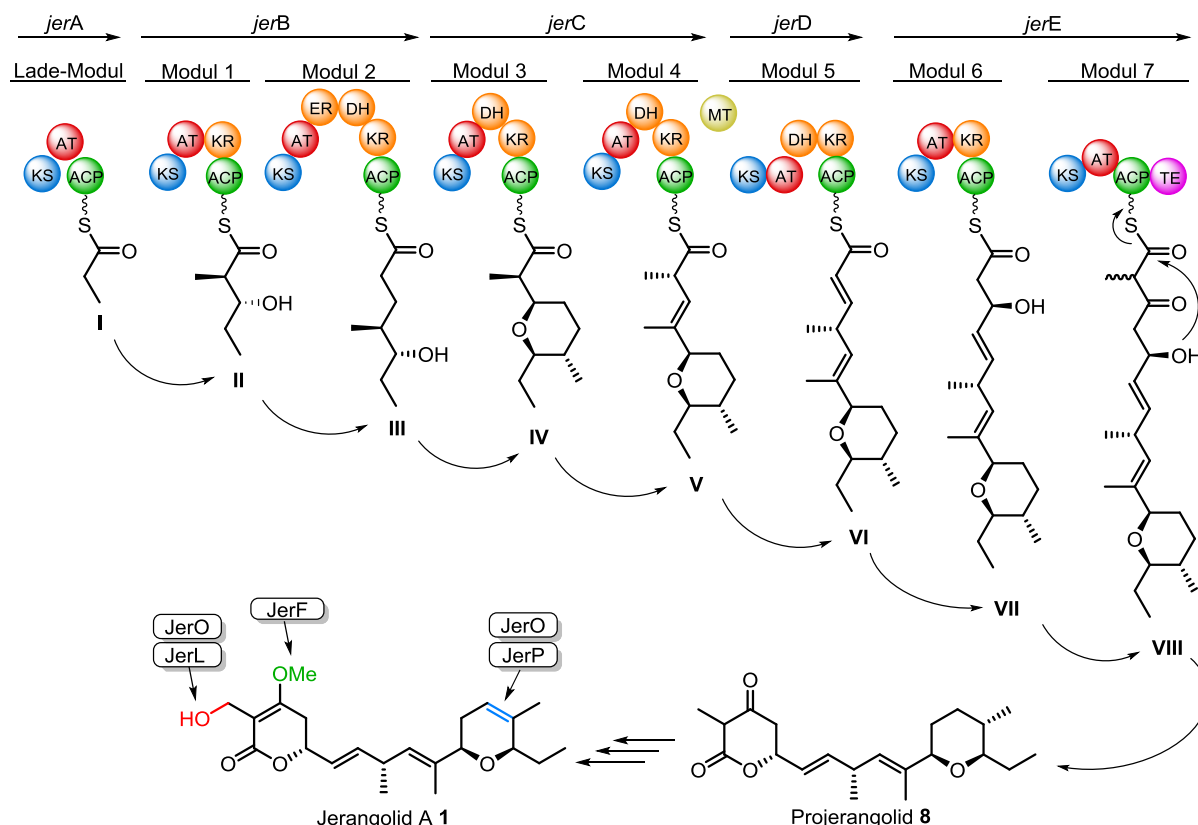
<sup>14</sup> S. Smith, S.-C. Tsai, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, 24, 1041–1072.

<sup>15</sup> G. Berkhan, F. Hahn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 14240–14244.

<sup>16</sup> G. Berkhan, C. Merten, C. Holec, F. Hahn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 13589–13592.

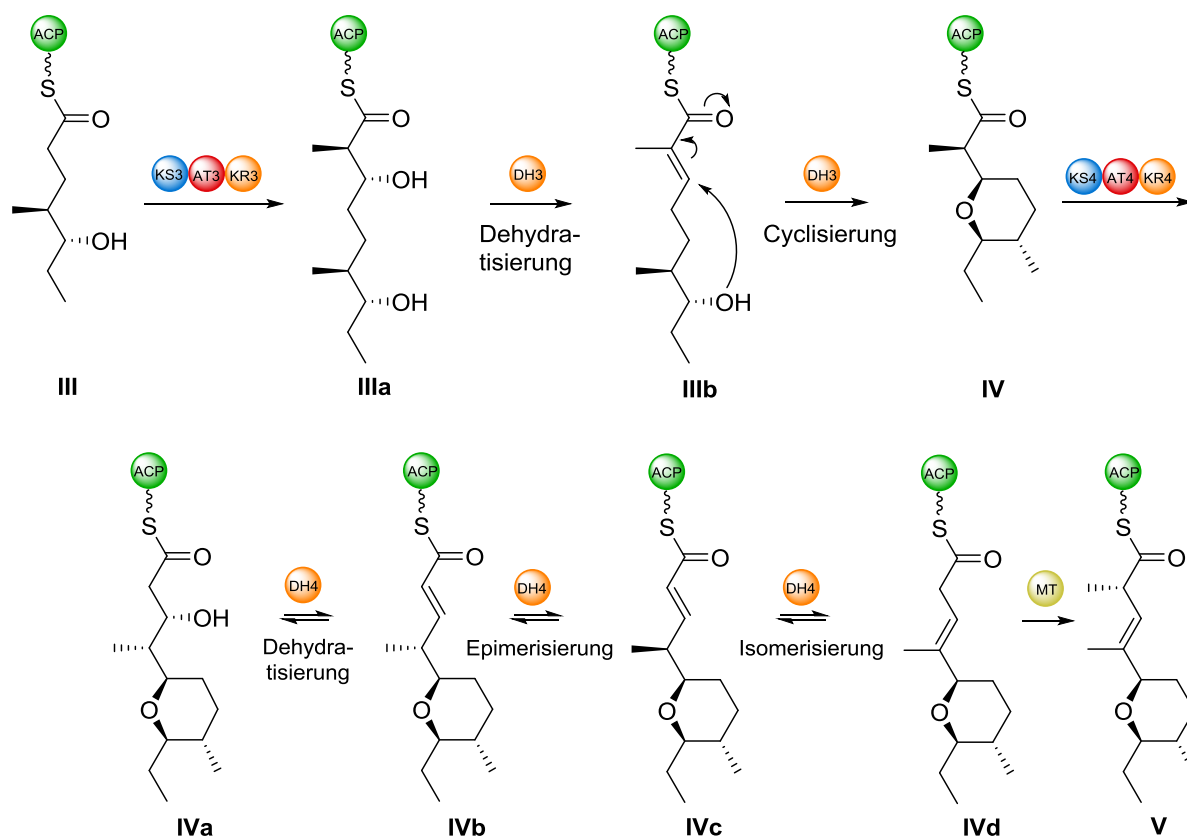
dass diese Ergebnisse auch für die Jerangolid-Biosynthese gelten. Hieraus resultiert eine modifizierte Version des von JULIEN *et al.* postulierten Biosynthesewegs.

Die modifizierte Version der Jerangolid-Biosynthese nach HAHN *et al.* ist in Schema 1 dargestellt.



**Schema 1** Postulierte Biosynthese von Jerangolid A basierend auf den Ergebnissen von JULIEN *et al.* und HAHN *et al.* (ACP = Acyl-Carrier-Protein, KS = Ketosynthase, AT = Acyltransferase, DH = Dehydratase, ER = Enoylreduktase, KR = Ketoreduktase, MT = Methyltransferase, TE = Thioesterase).

Ausgehend von Propionyl-CoA als Startbaustein wird über sieben Module durch Elongation mit Methylmalonyl-CoA (3x) und Malonyl-CoA (4x) das finale PKS-Intermediat **VIII** gebildet. Eine Besonderheit der Jerangolid Biosynthese im Vergleich zu klassischen Typ I PKS bilden die beiden multifunktionalen Deyhydratase-Domänen JerDH3 und JerDH4. Durch Verwendung von Substratanaloga gemeinsam mit den heterolog exprimierten und gereinigten enzymatischen Domänen gelang es HAHN *et al.* den Mechanismus der Katalyse der sehr nah verwandten Domänen AmbDH3 und AmbDH4 aus der Ambruticin-Biosynthese detailliert zu untersuchen.<sup>15,16</sup>



**Schema 2:** Experimentell bestätigter Abschnitt der Ambrotic-Biosynthese. Die nativen, ACP-gebundenen Substrate wurden für *in vitro* Untersuchungen durch SNAC Thioester ersetzt.<sup>15,16</sup>

Unter Berücksichtigung der Homologie zu der bifunktionalen AmbDH3 Domäne wird der THP-Ring in Modul 3 durch JerDH3 über eine Dehydratisierung mit anschließender Cyclisierung des Intermediats **IIIb** durch oxa-MICHAEL-Addition gebildet. Im nachfolgenden Modul 4 findet nach Verlängerung zum  $\alpha,\beta$ -ungesättigten System **IVb** eine Olefin-Umlagerung mit anschließender  $\alpha$ -Methylierung durch JerM (homolog zu AmbM) statt. Die hieran beteiligte Dehydratase-Domäne JerDH4 (homolog zu AmbDH4) fungiert dabei zusätzlich als Epimerase und Enoylisomerase (Schema 2), wodurch das  $\beta,\gamma$ -ungesättigte Intermediat **V** erhalten wird, welches weiter zu Intermediat **VIII** verlängert wird. Die Thioesterase in Modul 7 katalysiert schließlich die Abspaltung des Intermediats **VIII** und ist höchstwahrscheinlich für die Cyclisierung des  $\delta$ -Lacton Strukturmotivs von Projerangolid (**8**) verantwortlich. Projerangolid (**8**) wird anschließend durch die *Tailoring*-Enzyme JerF, JerL, JerO und JerP weiter modifiziert.

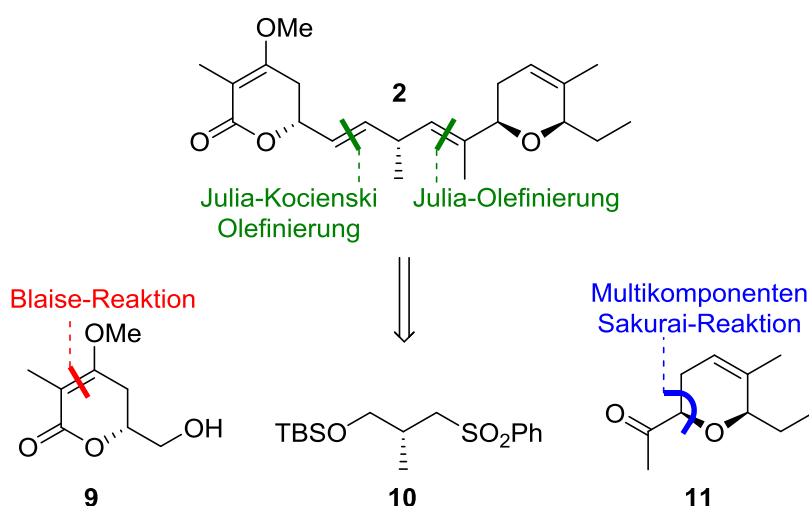
Bei JerF handelt es sich um eine SAM-abhängige *O*-Methyltransferase, die selektiv eine 4-*O*-Methylierung katalysiert. JerF konnte erstmals 2016 von HAHN *et al.* erfolgreich durch *in vitro* Studien mit Substratsurrogaten charakterisiert werden und stellt das erste bekannte Beispiel dar, welches die Bildung eines nicht-aromatischen, cyclischen Methylenolethers

katalysiert. Es konnte zudem gezeigt werden, dass JerF eine breite Substrattoleranz besitzt und neben Aromaten auch aliphatische Seitenketten variabler Größe toleriert.<sup>17</sup> JerP und JerL sind beides RIESKE [2Fe-2S]-Oxygenasen, die zusammen mit der flavinabhängigen Monooxygenase JerO als postuliertem Elektronendonator die finalen Modifizierungen am Jerangolidgerüst vornehmen. JerP katalysiert hierbei die Desaturierung des THP-Rings und JerL die Monohydroxylierung der Methylgruppe der Pyranoneinheit an C-2. Die Reihenfolge der Modifizierungen durch die *Tailoring*-Enzyme, sowie die katalytische Aktivität der beiden RIESKE-Oxygenasen sind noch nicht bekannt und müssen noch untersucht werden.

### 1.1.2 Totalsynthesen der Jerangolide

Die Familie der Jerangolide sind aufgrund ihrer strukturellen Besonderheiten und pharmakologischen Wirkung interessante Zielverbindungen. Bisher existieren jedoch nur Totalsynthesen für Jerangolid A (**1**) und Jerangolid D (**2**), welche beide einen Dihydropyranring besitzen. Die Reaktivität der Doppelbindung konnte in beiden Totalsynthesen für die Cyclisierung genutzt werden.

Die erste Synthese eines Vertreters der Jerangolid-Familie gelang 2007 MARKÓ *et al.* mit der erfolgreichen Synthese von Jerangolid D (**2**). Diese Totalsynthese umfasst 22 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 6.1% (längste lineare Sequenz: 12 Stufen, 14.5%).<sup>18</sup>



**Schema 3:** Retrosynthetische Analyse von Jerangolid D (**2**) nach MARKÓ *et al.*

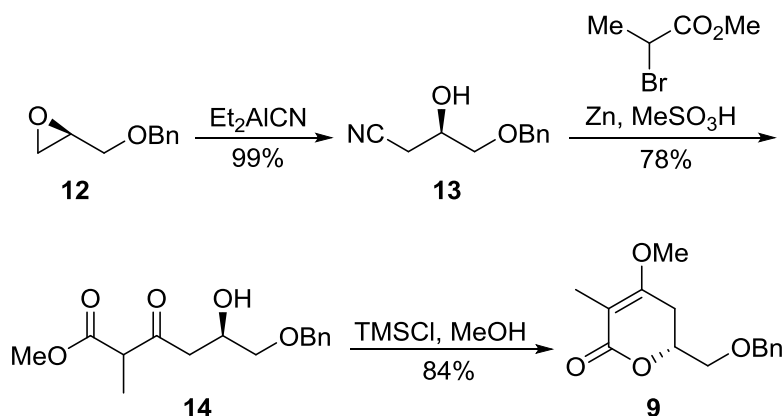
Jerangolid D (**2**) wurde aus drei Fragmenten aufgebaut, welche über eine JULIA- und eine JULIA-KOCIENSKI-Olefination miteinander verbunden wurden. Schlüsselschritte für die Synthese der Fragmente bildeten eine BLAISE-Reaktion für das Lacton **9** sowie eine

<sup>17</sup> S. Friedrich, F. Hemmerling, F. Lindner, A. Warnke, J. Wunderlich, G. Berkhan, F. Hahn, *Molecules* **2016**, *21*, 1443.

<sup>18</sup> J. Pospíšil, I. E. Markó, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3516–3517.

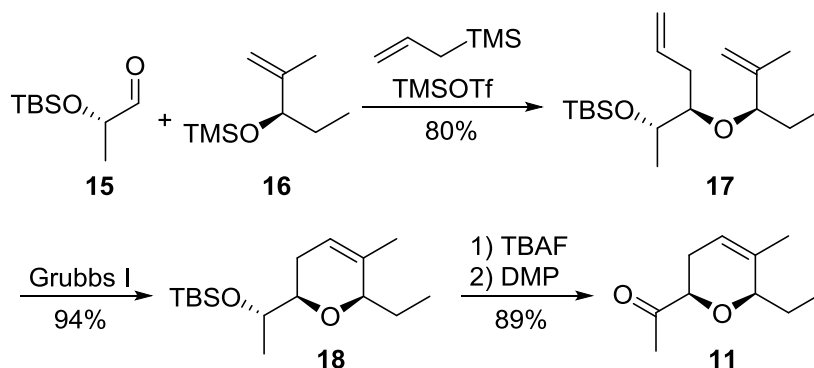


diastereoselektive SAKURAI-Reaktion für das Keton **11**. Das Mittelfragment **10** konnte ausgehend vom (*S*)-ROCHE-Ester dargestellt werden.



**Schema 4:** Synthese von Lacton **9** mit BLAISE-Reaktion und Lewissäuren vermittelter Cyclisierung/Enoletherbildung als Schlüsselschritt.

Ausgehend vom Epoxid **12** konnte das Lacton **9** nach vier Stufen mit einer Ausbeute von 47% erhalten werden. Nach Öffnung des Epoxids **12** mit Diethylaluminiumcyanid lieferte eine BLAISE-Reaktion den  $\beta$ -Ketoester **14**. Dieser wurde durch eine Lewissäure-vermittelte Cyclisierung mit gleichzeitiger Bildung des Methylenolethers in das Lacton **9** überführt.

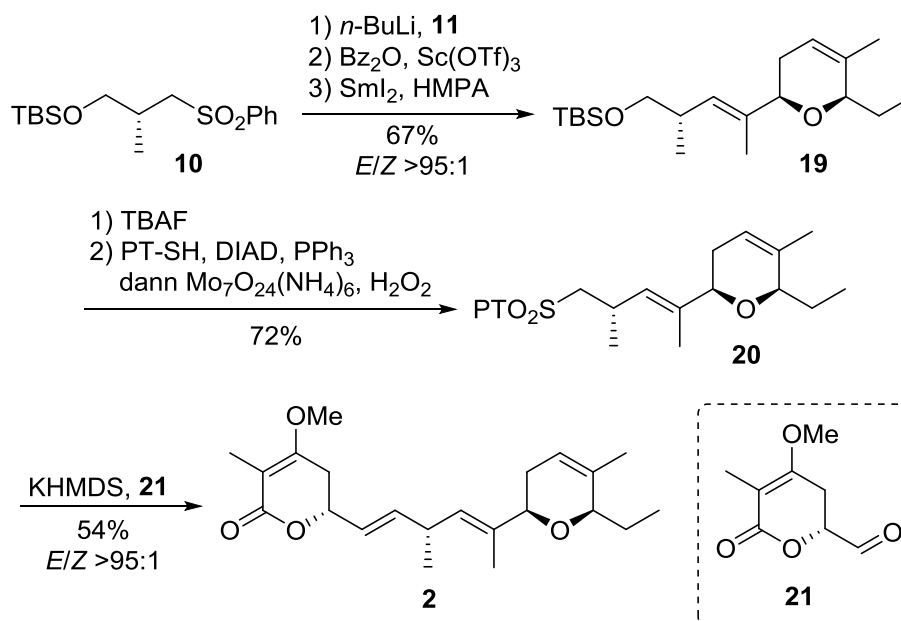


**Schema 5:** Synthese von Keton **11** über Multikomponenten SAKURAI-Reaktion mit anschließender Ringschlussmetathese.

Keton **11** war ausgehend von den beiden Fragmenten **15** und **16**, welche sich von Methacrolein bzw. Milchsäureethylester ableiten, in vier Stufen mit einer Ausbeute von 67% zugänglich. Die von MARKÓ *et al.* entwickelte Multikomponenten SAKURAI-Reaktion lieferte mit Aldehyd **15**, Silylether **16**, Allyltrimethylsilan und  $\text{TMSOTf}$  als Katalysator das *syn* Addukt als einzelnes Stereoisomer.<sup>19</sup> Durch nachfolgende Ringschlussmetathese (RCM)

<sup>19</sup> J. Pospíšil, T. Kumamoto, I. E. Markó, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3357–3360.

wurde der Dihydropyranring geschlossen und anschließende TBS-Entschützung, gefolgt von DESS-MARTIN-Oxidation lieferte schließlich Keton **11**.

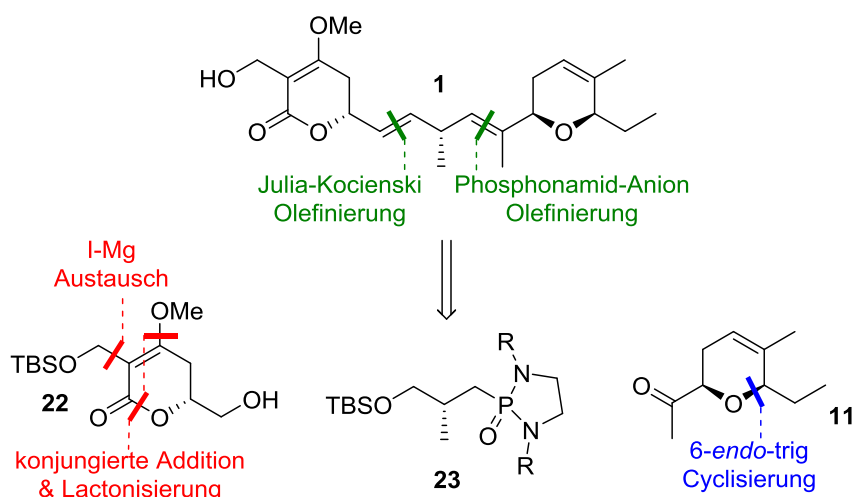


**Schema 6:** Finale Stufen der Jerangolid D (**2**) Totalsynthese.

In der finalen Phase der Totalsynthese sollten Lacton **9** und Keton **11** über das Mittelfragment **10** durch eine JULIA- und eine JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung gekuppelt werden. Ausgehend vom (*S*)-ROCHE-Ester wurde Mittelfragment **10** in vier Stufen mit einer Ausbeute von 98% aufgebaut. Die nachfolgende JULIA-Olefinierung lieferte das dreifach substituierte Olefin **19** mit exzellenter Selektivität von *E/Z* >95:1. Eine *in situ*-Benzoylierung des Intermediats der JULIA-Olefinierung konnte nicht reproduzierbar durchgeführt werden, daher musste eine mehrstufige Sequenz verfolgt werden. Nach Entschützung und Überführung in Sulfon **20** wurde in einer JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung mit dem von Lacton **9** abgeleiteten Aldehyd **21** Jerangolid D (**2**) erhalten.

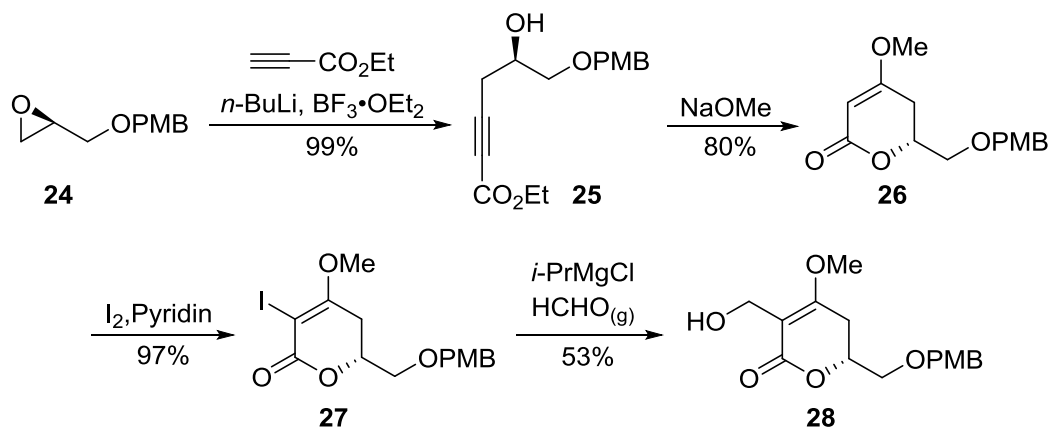
Die Totalsynthese von Jerangolid A (**1**) wurde 2010 von HANESSIAN *et al.* publiziert. Der totalsynthetische Zugang erfolgt hierbei über 23 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 1.9% (längsten linearen Sequenz: 16 Stufen, 6.2%).<sup>20</sup>

<sup>20</sup> S. Hanessian, T. Focken, R. Oza, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3172–3175.



**Schema 7:** Retrosynthetische Analyse von Jerganolid A **1** nach HANESSIAN *et al.*

HANESSIAN *et al.* basierten ihre Synthese von Jerangolid A (**1**) ähnlich wie MARKÓ *et al.* auf drei Fragmenten, welche über eine JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung und, anstelle der JULIA-Olefinierung, über eine Phosphonamid-Anion basierte Kupplung zusammengefügt wurden. Wesentliche Schlüsselschritte der Synthese bildeten zudem die MICHAEL-Addition und Lactonisierung zum Lacton **22** und eine 6-*endo*-trig Cyclisierung zur Bildung des Pyranrings des Ketons **11**. Das Mittelfragment **23** leitete sich vom (*R*)-ROCHE-Ester ab.

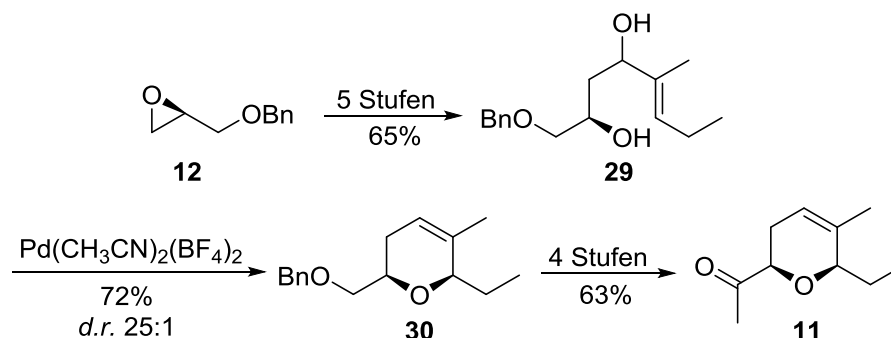


**Schema 8:** Synthese von Lacton **28** über eine MICHAEL-Addition und Lactonisierung, gefolgt von I-Mg-Austausch und Hydroxymethylierung.

Lacton **28** konnte in vier Stufen vom (*R*)-Glycidol-PMB-Ether **24** in einer Ausbeute von 41% dargestellt werden. Das bekannte Alkin **25** wurde durch Epoxidöffnung mit Ethylpropiolat erhalten.<sup>21</sup> Nachfolgende MICHAEL-Addition mit Natriummethanolat und Ringschluss durch die freie Hydroxyfunktion lieferte den cyclischen Methylenolether **26**. Eine zweistufige

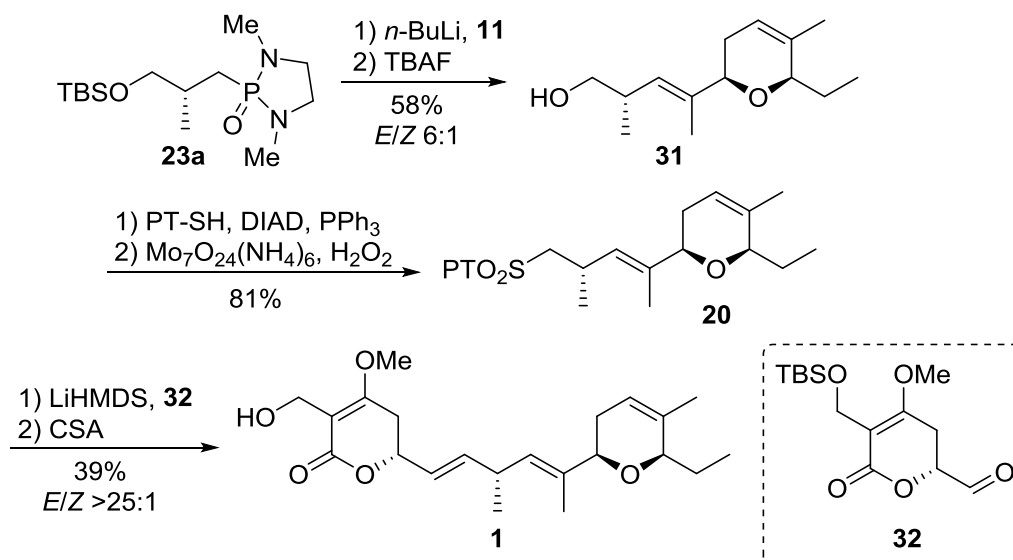
<sup>21</sup> A. Ahmed, E. K. Hoegenauer, V. S. Enev, M. Hanbauer, H. Kaehlig, E. Ohler, J. Mulzer, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 3026–3042.

Sequenz bestehend aus Iodierung und I-Mg-Austausch mit anschließender Reaktion mit Formaldehyd lieferte Lacton **28**.



**Schema 9:** Synthese der Pyraneinheit von Keton **11** über eine 6-*endo*-trig Cyclisierung.

Für die Synthese des DHP-Rings von Keton **11** wurde basierend auf der Methodik von UENISKI *et al.* eine 6-*endo*-trig Cyclisierung angestrebt.<sup>22</sup> Das allyliche Diol **29** wurde ausgehend von Epoxid **12** in 5 Stufen erhalten. Die Synthese umfasst neben der Epoxidöffnung mit einem Dithian die stereoselektive Reduktion um die allyliche Hydroxyfunktion zu erhalten. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Stereokonfiguration an dieser Position keinen Effekt auf die Stereoselektivität der nachfolgenden Reaktion hat und somit mit einem Diastereomerengemisch durchgeführt werden kann. Cyclisierung von **29** unter Verwendung des kationischen Komplexes  $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{CN})_2(\text{BF}_4)_2$  als Katalysator lieferte den *syn*-Pyranring in guter Selektivität. Einsatz von Lewis- oder Brønstedsäuren führte zu Steigerung der Ausbeute unter geringfügigem Verlust der Selektivität.



**Schema 10:** Finale Schritte in der Totalsynthese von Jerangolid A (**1**).

<sup>22</sup> N. Kawai, J.-M. Lagrange, M. Ohmi, J. 'ichi Uenishi, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 4530–4537.

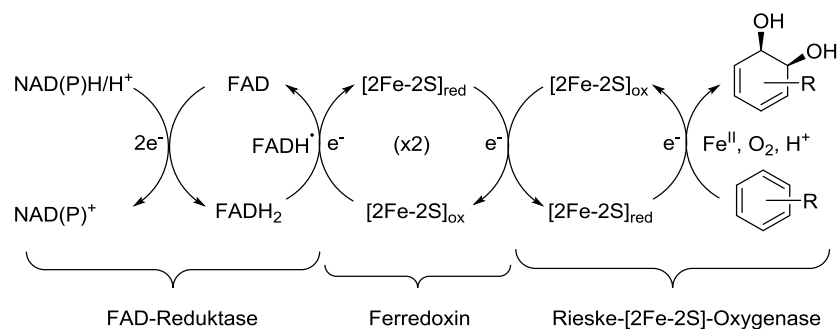
Am Ende der Totalsynthese von Jerangolid A (**1**) sollten Keton **11** und der von Lacton **28** ausgehend erhaltene Aldehyd **32** über das vom (*R*)-ROCHE-Ester abgeleitete Phosphonamid **23a** miteinander verknüpft werden. In der Reaktion zwischen Phosphonamid **23a** und Keton **11** mit anschließender Entschützung wurde das Olefinierungsprodukt **31** mit guter *E*-Selektivität erhalten. Wurde der sterische Anspruch des Phosphonamids durch Austausch der Methylsubstituenten gegen Isopropylgruppen erhöht, konnte die Selektivität der Reaktion gesteigert werden, dies führte jedoch zu einem Abfall der Ausbeuten. Anzumerken ist hierbei auch, dass gleichzeitig der Anteil an zurückgewonnenem Keton **11** anstieg. Nach Überführung in Sulfon **20** verlief die JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung mit Aldehyd **32** unter den von JACOBSEN *et al.* für die Totalsynthese von Ambruticin S (**6**) verwendeten Bedingungen mit exzellenter *E*-Selektivität (46%, *E/Z* >25:1).<sup>23</sup> Gleichzeitig konnte nicht umgesetztes Sulfon **20** zurückgewonnen werden. Abschließende Entschützung der Hydroxyfunktion lieferte Jerangolid A (**1**).

---

<sup>23</sup> P. Liu, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10772–10773.

## 1.2 RIESKE-Oxygenasen

RIESKE-Oxygenasen (*Rieske non-heme iron-dependent oxygenases*) sind wesentlich in bakteriellen Katabolismen für den Abbau von aromatischen Kohlenwasserstoffen verantwortlich und sind zudem in der Synthese einer Reihe von biologisch aktiven Naturstoffen beteiligt.<sup>24</sup> Eines der wichtigsten strukturellen Merkmale von RIESKE-Oxygenasen ist das Vorliegen eines [2Fe-2S]-Cluster. Das Eisenzentrum von RIESKE-[2Fe-2S]-Clustern ist im Gegensatz zu anderen [FeS]-Proteinen nicht über vier Cysteinylliganden koordiniert, sondern anstelle von zwei der Thiolatliganden findet die Koordination über die Imidazol-Stickstoffatome von Histidinylliganden statt.<sup>25</sup> Hierdurch kommt es zu einer Veränderung der elektronischen Eigenschaften des [2Fe-2S]-Clusters, woraus das für RIESKE-Oxygenasen charakteristische Redoxpotential von -150 bis -50 mV resultiert.<sup>26</sup>



**Schema 11:** Beispiel für den Elektronentransferweg für RIESKE-Oxygenasen.<sup>27</sup>

In ihrer katalytischen Aktivität sind RIESKE-Oxygenasen an elektronenmobilisierende Reduktasen gebunden. Diese übertragen Elektronen von NAD(P)H über einen Flavin-Cofaktor durch den RIESKE-Cluster auf das Eisenzentrum in der aktiven Stelle. Der Transfer erfolgt hierbei entweder direkt oder wahlweise über einen elektronenübertragendes [FeS]-Ferredoxin. Das katalytisch aktive Eisenzentrum ist schließlich für die Aktivierung von molekularem Sauerstoff verantwortlich, wodurch eine Oxidation des Substrats erreicht wird.<sup>27,28</sup>

<sup>24</sup> S. M. Barry, G. L. Challis, *ACS Catal.* **2013**, 3, 2362–2370.

<sup>25</sup> L. P. Wackett, *Enzyme Microb. Technol.* **2002**, 31, 577–587.

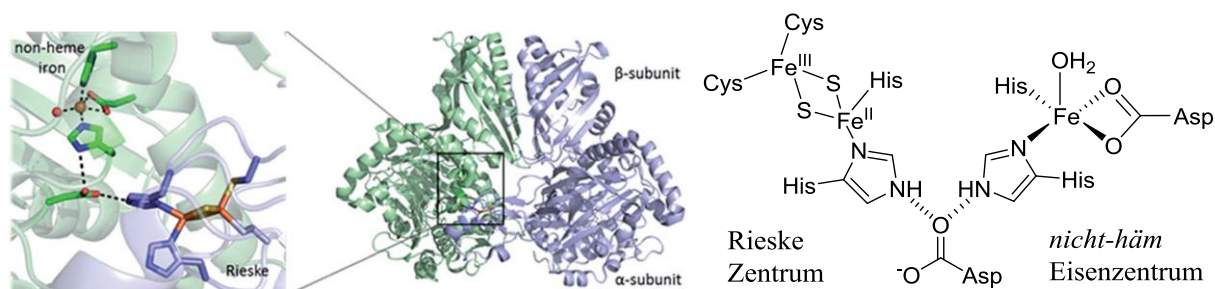
<sup>26</sup> N. J. Cosper, D. M. Eby, A. Kounosu, N. Kurosawa, E. L. Neidle, D. M. Kurtz, T. Iwasaki, R. A. Scott, *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* **2002**, 11, 2969–2973.

<sup>27</sup> D. J. Ferraro, L. Gakhar, S. Ramaswamy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, 338, 175–190.

<sup>28</sup> M. Senda, S. Kishigami, S. Kimura, M. Fukuda, T. Ishida, T. Senda, *J. Mol. Biol.* **2007**, 373, 382–400.

### 1.2.1 Mechanismus der RIESKE-Oxygenasen

Wesentliche Einblicke in die Struktur und den Mechanismus der RIESKE-Oxygenasen konnten durch die ausführliche Charakterisierung der Naphtalen-Dioxygenase (NDO), welche die selektive *cis*-1,2-Dihydroxylierung von Naphtalen katalysiert, gewonnen werden.<sup>29,30</sup> NDO ist aus katalytischen  $\alpha$ -Untereinheiten und strukturellen  $\beta$ -Untereinheiten aufgebaut, welche sich in der aktiven Form zu einem  $\alpha_3\beta_3$ -Komplex zusammenlagern.<sup>31</sup>



**Abbildung 5:** Aufbau und Anordnung des RIESKE-[2Fe-2S]-Clusters und des nicht-häm mononuklearen Eisenzentrums innerhalb der  $\alpha$ -Untereinheit basierend auf Kristallstrukturanalysen. Abb. analog zu CHALLIS *et al.*<sup>24,32</sup>

Die Bindung des RIESKE-[2Fe-2S]-Clusters erfolgt in der *N*-terminalen Domäne der  $\alpha$ -Untereinheit durch Koordination mit jeweils zwei Cysteinyl- und Histidinylliganden. Diese sind in einem CXHX<sub>17</sub>CX<sub>2</sub>H-Motiv angeordnet, welches hoch konserviert in allen Vertretern der RIESKE-Oxygenase-Familie vorliegt. Das mononukleare Eisen-(II)-zentrum wird durch zwei Histidin- und einen Aspartatrest in einer „2-His-1-Carboxylat-Triade“ in der *C*-terminalen Domäne koordiniert. Ein zweiter Aspartatrest innerhalb der *C*-terminalen Domäne fungiert als Brücke zwischen dem RIESKE-[2Fe-2S]-Cluster und dem Eisen-(II)-zentrum in benachbarten Untereinheiten und ist vermutlich am Elektronentransfer zwischen beiden Einheiten beteiligt.<sup>33</sup> Mit der Reduktion des RIESKE-Clusters geht eine Konformationsänderung einher, wodurch einer der Histidinylliganden eine Wasserstoffbrückenbindung zum verbrückenden Aspartatrest ausbilden kann. Dies hat den Effekt, dass sich die Koordinationsgeometrie des nicht-häm Eisen-(II)-zentrums ändert, wodurch die Bindung von Sauerstoff an das Metallion begünstigt wird.<sup>34</sup>

<sup>29</sup> B. C. Axcell, P. J. Geary, *Biochem. J.* **1975**, 146, 173–183.

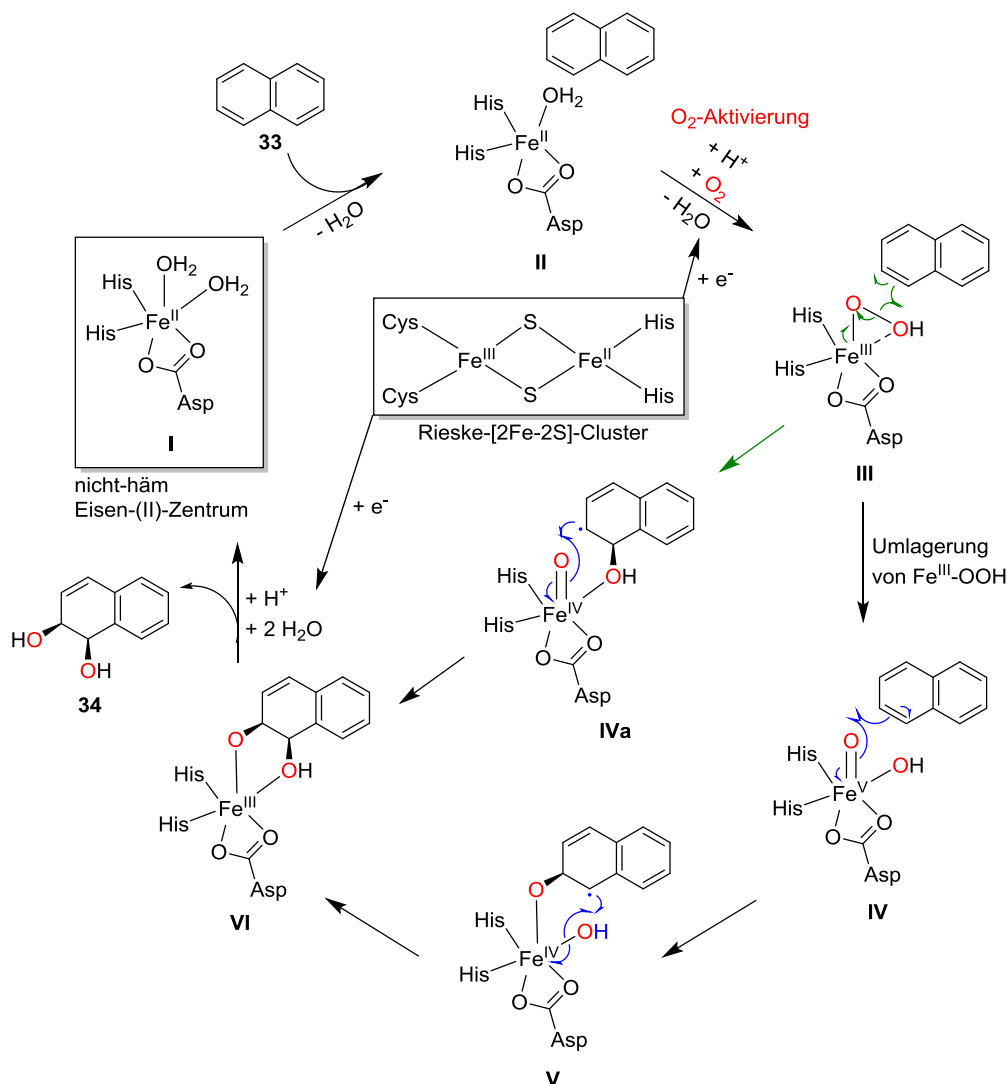
<sup>30</sup> D. T. Gibson, J. R. Koch, R. E. Kallio, *Biochemistry* **1968**, 7, 2653–2662.

<sup>31</sup> A. Karlsson, J. V. Parales, R. E. Parales, D. T. Gibson, H. Eklund, S. Ramaswamy, *Science* **2003**, 299, 1039–1042.

<sup>32</sup> C. Perry, E. L. C. de Los Santos, L. M. Alkhalaf, G. L. Challis, *Nat. Prod. Rep.* **2018**, 35, 622–632.

<sup>33</sup> R. E. Parales, J. V. Parales, D. T. Gibson, *J. Bacteriol.* **1999**, 181, 1831–1837.

<sup>34</sup> B. M. Martins, T. Svetlitchnaia, H. Dobbek, *Struct. Lond. Engl.* 1993 **2005**, 13, 817–824.



**Schema 12:** Postulierter Mechanismus für die *cis*-Dihydroxylierung von Naphtalen durch NDO. Abb. verändert übernommen von CHALLIS *et al.*<sup>24</sup>

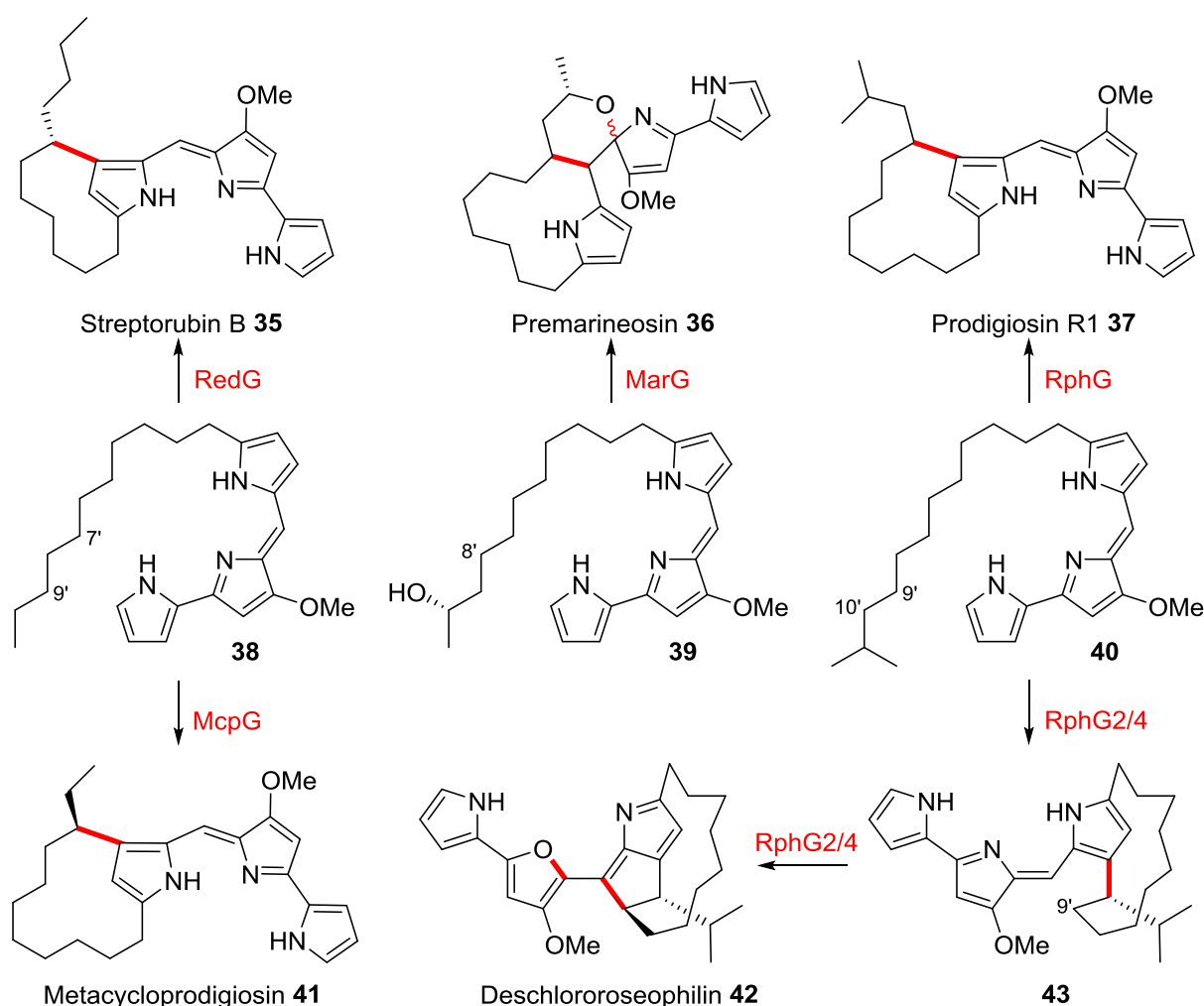
Die Bindung von  $\text{O}_2$  und Transfer eines Elektrons vom RIESKE-[2Fe-2S]-Cluster, sowie anschließende Protonierung führen zur Bildung des Peroxid-Komplexes **III**. Der Hydroperoxidkomplex **III** geht durch simultane O-O Bindungsspaltung und Substratoxidation in den  $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$  Komplex **IVa** über und ein Hydroxynaphthalenradikal-Intermediat entsteht, welches weiter zum Alkoxyhydroxynaphthalen-Intermediat reagiert. Transfer eines zweiten Elektrons vom RIESKE-[2Fe-2S]-Cluster resultiert hierbei in der Bildung des  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -Alkoxyhydroxynaphthalen-Komplexes **VI**. Die Freisetzung von *cis*-Dihydroxynaphthalen **34** durch Protonierung resultiert gleichzeitig in der Regeneration des aktiven Eisen-(II)-zentrums. Es ist jedoch noch unklar, ob der  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OOH}$  Komplex **III** direkt mit dem Substrat über **IVa** reagiert, oder sich zuerst zu einem  $\text{Fe}^{\text{V}}\text{-O(OH)}$  Komplex **IV** umlagert.<sup>24</sup> Die Bindung des Substrats kontrolliert den geordneten Mechanismus, wodurch eine



O<sub>2</sub>-Aktivierung ohne gebundenes Substrat vermieden wird, welche zu oxidativen Inaktivierung des Enzyms führen könnte.

Wie bereits erwähnt, sind RIESKE-Oxygenasen nicht nur an katabolischen Reaktionen beteiligt, sondern nehmen auch Schlüsselrollen in der Biosynthese von biologisch aktiven Naturstoffen ein.

Prodiginine sind eine Familie von Alkaloiden, welche hauptsächlich von Actinobakterien produziert werden und sich durch ein konjugiertes 4-Methoxypyrrolyldipyrromethen-Grundgerüst auszeichnen.<sup>35,36</sup> An den späten Schritten der Biosynthese sind unterschiedliche RIESKE-Oxygenasen beteiligt, welche oxidative Cyclisierungsreaktionen katalysieren.

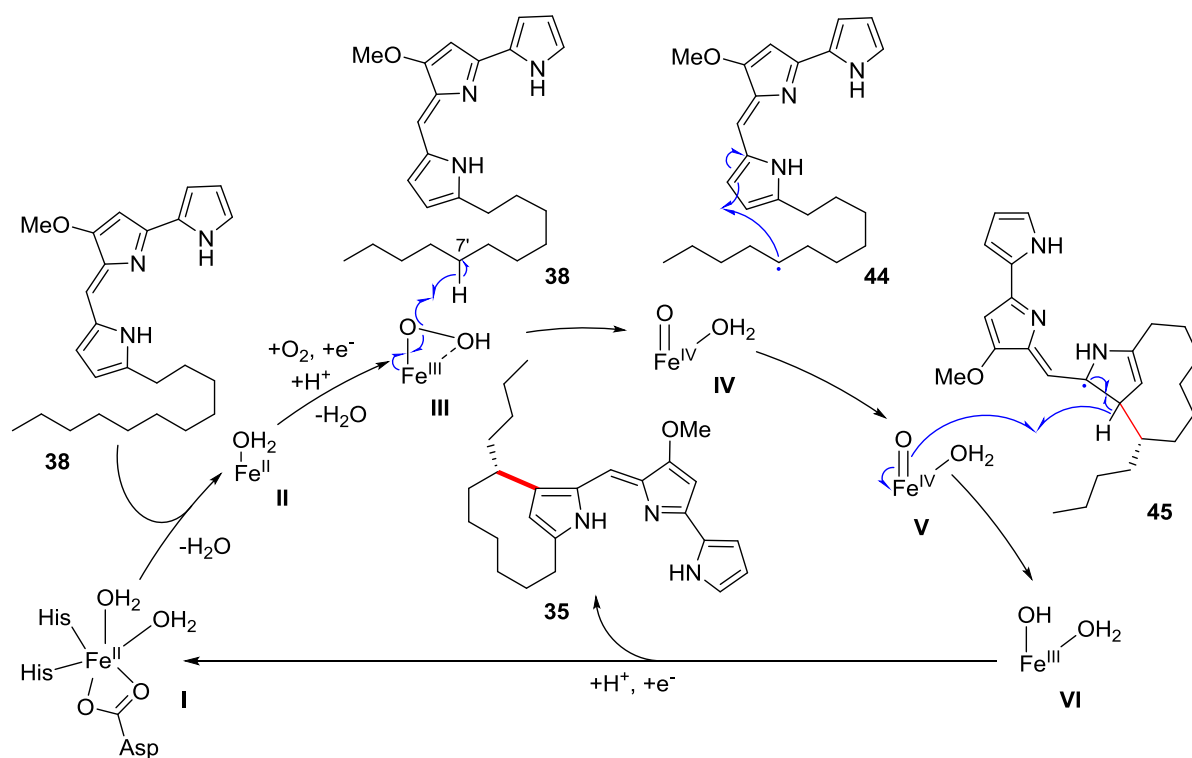


**Schema 13:** RIESKE-Oxygenasen katalysierte Cyclisierungsreaktion innerhalb der Prodiginin Alkaloidbiosynthese. Abb. analog zu CHALLIS *et al.*<sup>32</sup>

<sup>35</sup> A. Fürstner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 3582–3603.

<sup>36</sup> D. X. Hu, D. M. Withall, G. L. Challis, R. J. Thomson, *Chem. Rev.* **2016**, 116, 7818–7853.

Streptorubin B **35** und Metacycloprodigiosin **41** leiten sich beide von dem Vorläufer Undecylprodigiosin **38** ab. Für Streptorubin B **35** konnte nachgewiesen werden, dass RedG für die Umsetzung von Undecylprodigiosin **38** verantwortlich ist. Durch heterologe Expression in einer RedG-Knockout-Mutante konnte ebenfalls das zu RedG nah verwandte McpG als verantwortliches Enzym für die Produktion von Metacycloprodigiosin **41** identifiziert werden.<sup>37</sup> Interessanterweise ist die Stereokonfiguration an C-7 bzw. C-9 der beiden Naturstoffe entgegengesetzt. Dies zeigt, dass die durch RedG und respektiv McpG katalysierten oxidativen Cyclisierungen zu den 10- und 12-gliedrigen Makrocyclen sowohl regio-, als auch stereoselektiv verlaufen. Sequenzanalysen zeigten, dass beide Proteine das charakteristische CXHX<sub>17</sub>CX<sub>2</sub>H-Motiv für die Bindung des RIESKE-[2Fe-2S]-Cluster als auch eine EXHX<sub>4</sub>H-Variante der „2-His-1-Carboxylat-Triade“ zur Bindung des Eisen-(II)-Zentrums besitzen.<sup>24</sup>

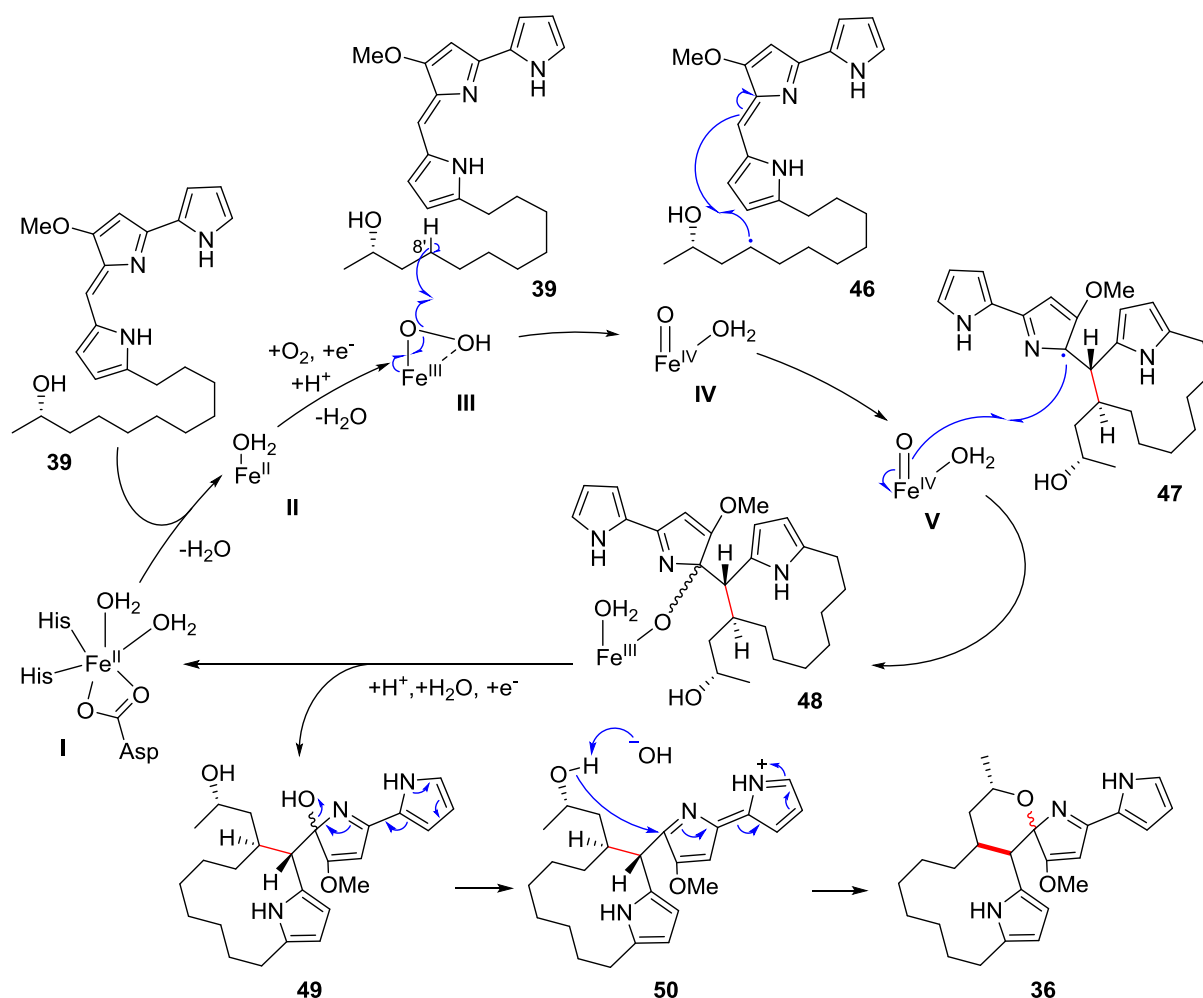


**Schema 14:** Postulierter katalytischer Mechanismus für RedG. Abb. in veränderter Form übernommen von CHALLIS *et al.*<sup>32</sup>

Die enzymatische Reaktion von RedG könnte analog zum Mechanismus für NDO verlaufen. Die Bindung von Undecylprodigiosin im aktiven Zentrum bewirkt den Verlust eines Wasserliganden, wodurch die Bildung des Eisen-(III)-peroxidkomplex **III** ermöglicht wird. Dieser bildet sich durch Verlust eines weiteren Wasserliganden, Reduktion durch

<sup>37</sup> P. K. Sydor, S. M. Barry, O. M. Odulate, F. Barona-Gomez, S. W. Haynes, C. Corre, L. Song, G. L. Challis, *Nat. Chem.* **2011**, 3, 388–392.

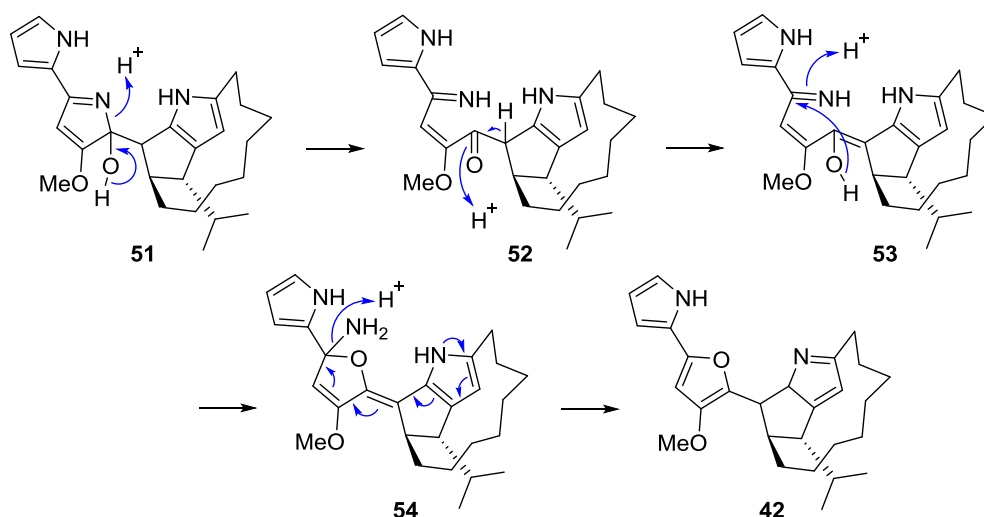
Elektronentransfer vom RIESKE-[2Fe-2S]-Cluster und anschließende Protonierung. Die Abstraktion des Wasserstoffatoms an C-7 erfolgt entweder durch den Fe(III)OOH-Komplex oder es könnte ähnlich wie beim Mechanismus für NDO zunächst eine Umlagerung zu einem Fe(V)O(OH)-Komplex stattfinden. Angriff des Radikals **44** am benachbarten Pyrrolring liefert das über Konjugation stabilisierte Radikal und die Aromatizität des Pyrrolrings wird schließlich durch Abstraktion eines zweiten Wasserstoffatoms wieder hergestellt. Hierbei wird Streptorubin B **35** erhalten, welches nach Reduktion und Protonierung des Eisen-(III)-Komplexes **VI** zum Ausgangszustand freigesetzt wird. Alternativ ist ebenso möglich, dass anstelle eines Wasserstoffatoms ein Hydrid abstrahiert wird und die Reaktion einem kationischen Mechanismus folgt.<sup>24</sup> Über Deuterierungsexperimente konnte nachgewiesen werden, dass RedG, im Gegensatz zu anderen nicht-Häm eisenabhängigen Oxygenasen, die oxidative Cyclisierung unter Inversion der Stereokonfiguration am Kohlenstoff katalysiert.<sup>38</sup>



**Schema 15:** Postulierter Mechanismus für die katalytische Aktivität von MarG und die nachfolgende Bildung von Premaraineosin **36**. Abb. in veränderter Form übernommen von CHALLIS *et al.*<sup>32</sup>

<sup>38</sup> D. M. Withall, S. W. Haynes, G. L. Challis, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137, 7889–7897.

Marineosin A und B besitzen beide eine Variation des 4-Methoxypyrrolyldipyrromethen-Grundgerüsts, welche ein 4-Methoxy-2-pyrrolazacyclopenten spiro-verknüpft mit einem Tetrahydropyranring beinhaltet. Bei der Analyse des Genclusters der Marineosine zeigte sich, dass dieser große Übereinstimmungen mit dem Gencluster besitzt, welcher für die Biosynthese von Streptorubin B **35** verantwortlich ist. Ein wesentlicher Unterschied ist ein zusätzliches Gen, *marA*, welches eine Reduktase kodiert, die die Umsetzung von Premarineosin **36** zu Marineosin A und B katalysiert. Als für die Cyclisierung verantwortliche RIESKE-Oxygenase wurde MarG identifiziert, welche hohe Ähnlichkeit zu RedG aufweist.<sup>39</sup> Die Umsetzung des Vorläufers **39** durch MarG zu Premarineosin **36** verläuft analog zu dem für RedG vorgeschlagenen Mechanismus.<sup>38</sup> Nach Abstraktion eines Wasserstoffatoms und Reaktion des Alkylradikals **46** wird das delokalisierte Radikal **47** erhalten. Dieses reagiert mit dem Eisen-(IV)-komplex **V** zum cyclisierten und hydroxylierten Produkt **49**. Nach Eliminierung zum Iminium-Ion **50** erfolgt die Bildung des Tetrahydropyranrings durch Angriff der C-10 Hydroxylgruppe.



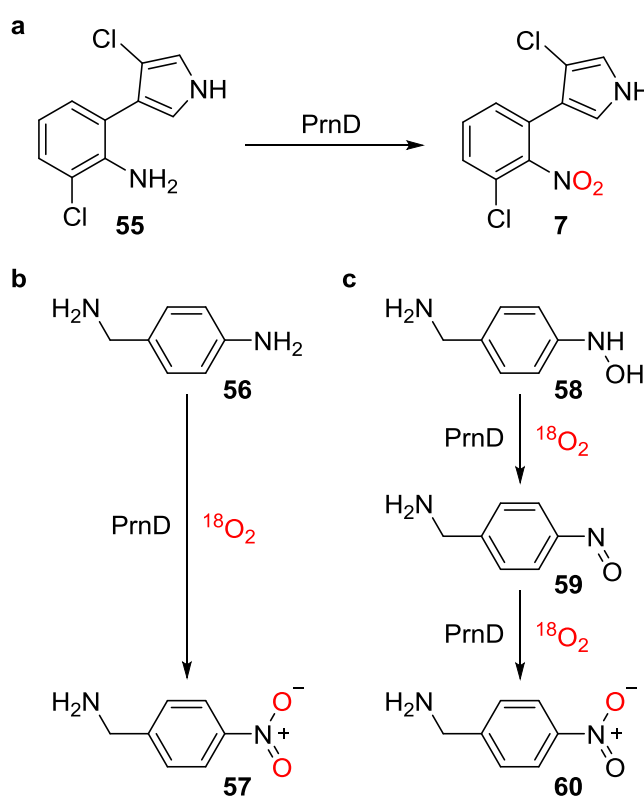
**Schema 16:** Postulierter Mechanismus für die Bildung von Deschloroseophilin **42** aus dem von RphG2/4 gebildeten Produkt **51**. Abb. analog zu CHALLIS *et al.*<sup>32</sup>

Eine weitere Variation des Prodiginingrundgerüsts findet sich bei Roseophilin und Deschloroseophilin **42**, welche einen Furanring als zentralen Ring besitzen. Der für Deschloroseophilin **42** und Prodigiosin R1 **37** codierende Gencluster enthält die vier Enzyme RphG, RphG2, RphG3 und RphG4, welche Homologie zu RedG zeigen, wobei RphG3 jedoch das Motiv zur Bindung eines [2Fe-2S]-Clusters nicht besitzt und daher

<sup>39</sup> S. M. Salem, P. Kancharla, G. Florova, S. Gupta, W. Lu, K. A. Reynolds, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 4565–4574.

vermutlich nicht funktional ist.<sup>40,36</sup> Heterologe Expression von RphG in einer *redG* Mutante von *S. coelicolor* lieferte Metacycloprodigiosin **41** als Hauptprodukt. Diese Ergebnisse legen nahe, dass RphG für die Cyclisierung von 11'-Methyldodecylprodigiosin **40** zu Prodigiosin R1 **37** verantwortlich ist und dass RphG2 und RphG4 an der Biosynthese von Deschlororoseophilin **42** beteiligt sind. Es wird vermutet, dass eines der beiden Enzyme zunächst die Cyclisierung von **40** zum Intermediat **43** katalysiert (Schema 13). Das zweite Enzym katalysiert anschließend die C-C-Verknüpfung und Hydroxylierung des 4-Methoxy-pyrrolyldipyrromethengerüsts analog zum für MarG vorgeschlagenen Mechanismus. Am so erhaltenen Produkt **51** findet daraufhin eine Ringöffnung gefolgt von einer Tautomerisierung statt. Durch Ringschluss und Eliminierung von Ammoniak wird schließlich Deschlororoseophilin **42** erhalten (Schema 16).<sup>36</sup>

Eine der *in vitro* am besten untersuchten RIESKE-Oxygenasen stellt PrnD aus der Biosynthese des antifungalen Metaboliten Pyrrolnitrin (**7**) dar, welcher von vielen *Pseudomonas* und *Burkholderia* Stämmen produziert wird.



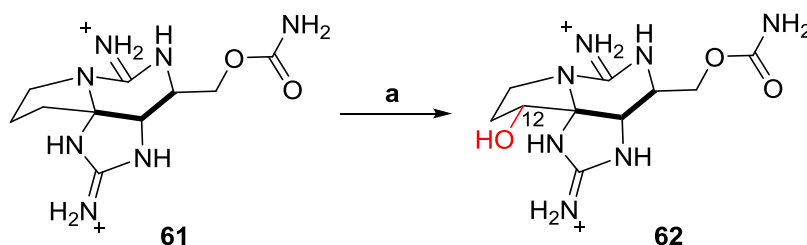
**Schema 17:** Enzymatische Aktivität von PrnD: **a**) PrnD katalysierte Oxidation von Amino-pyrrolnitrin **55** zu Pyrrolnitrin (**7**); **b**) Oxidation von 4-Aminobenzylamin **56** mit PrnD unter  $^{18}\text{O}_2$ -Atmosphäre; **c**) Oxidation von 4-Hydroxylaminobenzylamin **58** mit PrnD unter  $^{18}\text{O}_2$ -Atmosphäre. Abb. analog zu CHALLIS *et al.*<sup>32</sup>

<sup>40</sup> T. Kawasaki, F. Sakurai, S. Nagatsuka, Y. Hayakawa, *J. Antibiot.* **2009**, 62, 271–276.

PrnD katalysiert die finale Oxidation der Aminogruppe von Aminopyrrolnitrin **55** zur Nitrofunktion von Pyrrolnitrin (**7**).<sup>41,42</sup> Die Funktion von PrnD konnte hierfür durch *in vitro* Experimente bestätigt werden.<sup>43</sup> Bei Inkubation des Substratanalogons 4-Aminobenzylamin **56** mit PrnD unter  $^{18}\text{O}_2$ -Atmosphäre wurden beide Sauerstoffatome der Nitrogruppe als  $^{18}\text{O}$  markiert. Wurde stattdessen das vermutete Intermediat der PrnD-katalysierten Oxidation, 4-Hydroxylaminobenzylamin **58**, unter  $^{18}\text{O}_2$ -Atmosphäre umgesetzt, so wurde nur die Markierung eines Sauerstoffatoms festgestellt und für das Intermediat 4-Nitrosobenzylamin **59** war keine Markierung zu beobachten. Dies deutet daraufhin, dass 4-Nitrosobenzylamin **59** durch direkte Dehydrogenierung von 4-Hydroxylaminobenzylamin **58** gebildet wird.<sup>44,45</sup>

### 1.2.2 Biotransformationen mit RIESKE-Oxygenasen

Die Untersuchung von RIESKE-Enzymen gestaltet sich häufig schwierig, da sie für die Nutzung von molekularem Sauerstoff auf den Elektronentransport von einem Redoxpartner auf den [2Fe-2S]-Cluster und von da aus auf das aktive Eisenzentrum angewiesen sind. NARAYAN *et al.* konnten für die C-H-Hydroxylierung in der Saxitoxin-Biosynthese zeigen, dass sich durch Verwendung von Wasserstoffperoxid als Oxidationsmittel eine Rekonstituierung des Elektronentransports umgehen lässt. Wasserstoffperoxid reagiert direkt mit dem aktiven Eisenzentrum, wodurch der aktive Peroxokomplex gebildet wird.<sup>46</sup>



**Schema 18:** Hydroxylierung von ddSTX **61** mit SxtT in der Gegenwart von  $\text{H}_2\text{O}_2$ : **a)** SxtT,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $30\text{ }^\circ\text{C}$ , 2 h.<sup>46</sup>

Innerhalb der Saxitoxin-Biosynthese werden eine Reihe von selektiven C-H-Hydroxylierungen durch RIESKE-Oxygenasen durchgeführt, wobei die C-12-Hydroxylierung durch die RIESKE-Oxygenase SxtT katalysiert wird. Dass die Hydroxylierung

<sup>41</sup> P. E. Hammer, D. S. Hill, S. T. Lam, K. H. Van Pée, J. M. Ligon, *Appl. Environ. Microbiol.* **1997**, *63*, 2147–2154.

<sup>42</sup> K. H. Van Pée, O. Salcher, F. Lingens, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, *19*, 828–829.

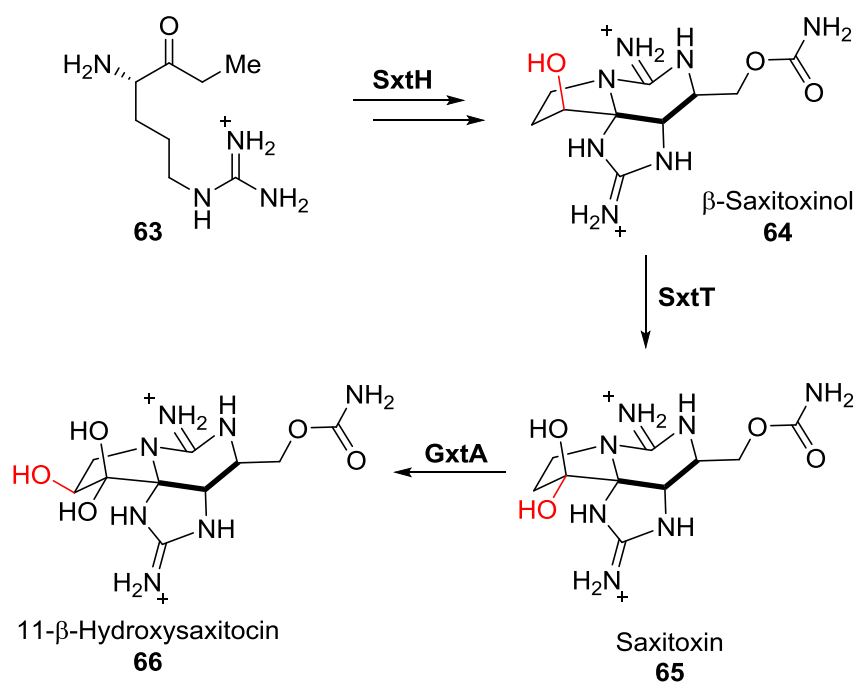
<sup>43</sup> J. Lee, M. Simurdiak, H. Zhao, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 36719–36727.

<sup>44</sup> J.-K. Lee, E.-L. Ang, H. Zhao, *J. Bacteriol.* **2006**, *188*, 6179–6183.

<sup>45</sup> J. Lee, H. Zhao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 622–625.

<sup>46</sup> A. L. Lukowski, D. C. Ellinwood, M. E. Hinze, R. J. DeLuca, J. Du Bois, S. Hall, A. R. H. Narayan, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 11863–11869.

hierbei selektiv an C-12 stattfindet, konnte durch LC-MS-Analyse der Reaktion von SxtT in Gegenwart von Wasserstoffperoxid mit Dideoxysaxitoxin **61** (ddSTX) bestätigt werden. Der natürliche Redoxpartner konnte im Weiteren zwar nicht identifiziert werden, allerdings war es NARAYAN *et al.* möglich diesen durch die Verwendung von Redoxpartnern nah verwandter RIESKE-Oxygenasen zu ersetzen. Hierbei zeigte sich, dass der Umsatz der Enzymreaktion abnahm, je weiter entfernt die entsprechenden Oxygenasen verwandt waren.



**Schema 19:** C-H-Hydroxylierung innerhalb der Saxitoxin-Biosynthese katalysiert durch die RIESKE-Oxygenasen SxtH, SxtT und GxtA. Abb. analog zu NARAYAN *et al.*<sup>46</sup>

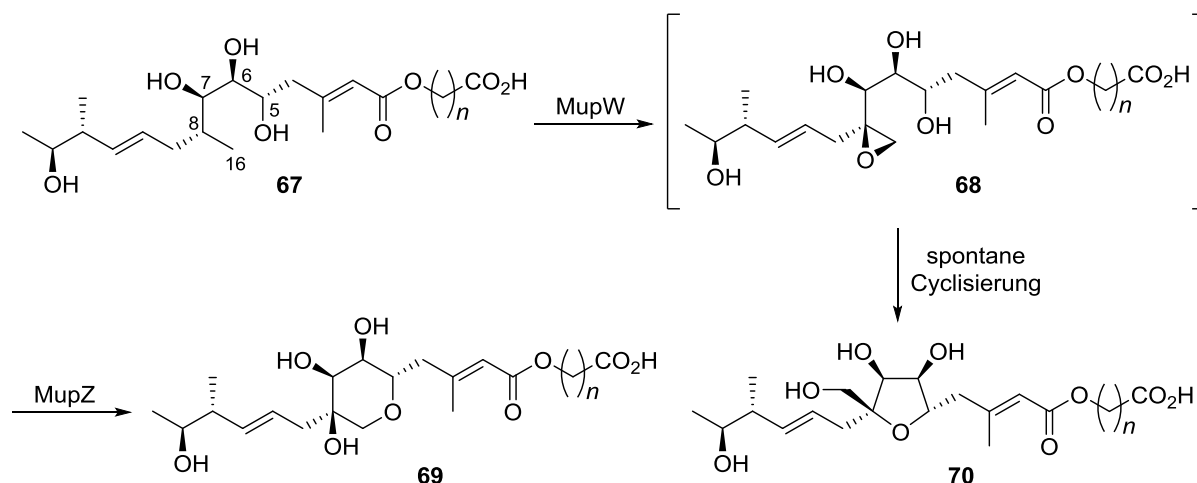
Durch Kombination des verwandten Redoxpartners VanB (ein FMN-abhängiges und einen [2Fe-2S]-Cluster enthaltendes Enzym) mit den anderen identifizierten RIESKE-Oxygenasen der Saxitoxin-Biosynthese GxtA und SxtH konnte deren Rolle in der Saxitoxin-Biosynthese aufgeklärt werden.

Die Verwendung von *in vivo* Systemen stellt eine andere Methode zur Untersuchung und zur biokatalytischen Anwendung von RIESKE-Enzymen dar. Hierbei kann der Metabolismus des heterologen Wirtsorganismus für die Cofaktorregeneration genutzt werden. HAUER *et al.* konnten den Nutzen von *in vivo* Systemen in umfangreichem Rahmen für die Untersuchung der Selektivität von modifizierten RIESKE-Dioxygenasen zeigen.<sup>47</sup> Durch Punktmutationen konnte die Regio- und Stereoselektivität von Benzoldioxygenase (BDO) und Cumendioxygenase (CDO) bezüglich unterschiedlicher aliphatischer Verbindungen im

<sup>47</sup> C. Gally, B. M. Nestl, B. Hauer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 12952–12956.

Vergleich zu den Wildtypen der jeweiligen Enzyme verbessert werden. Neben der verbesserten Selektivität konnten HAUER *et al.* außerdem auch das Potential von durch Punktmutationen modifizierten RIESKE-Oxygenasen für die biokatalytische Anwendung durch *in vivo* Biotransformationen im semipräparativen Maßstab zeigen.

Auch WILLIS *et al.* nutzten für die Untersuchung der Sauerstoffheterocyclenbildung innerhalb der Mupirocin-Biosynthese *in vivo* Biotransformationen um die Rolle der beteiligten Enzyme zu identifizieren.<sup>48</sup>



**Schema 20:** Bildung von Sauerstoffheterocyclen in der Mupirocin-Biosynthese. Abb. analog zu WILLIS *et al.*<sup>48</sup>

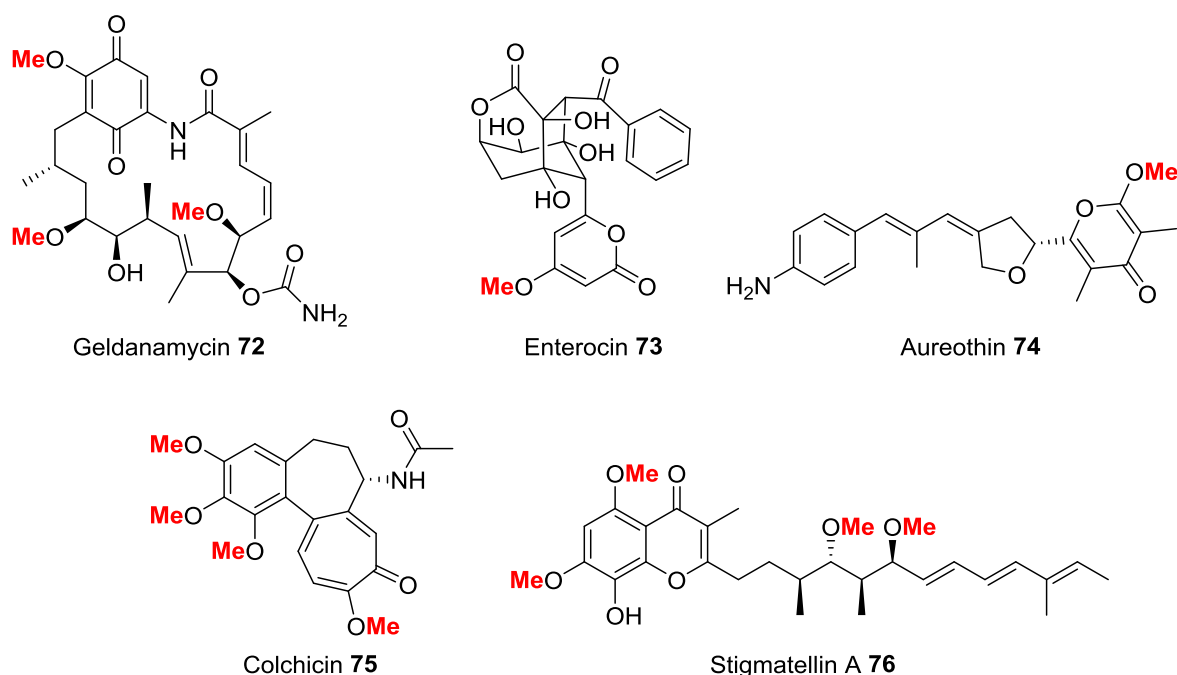
Eine Kombination aus der RIESKE-Oxygenase MupW und der Epoxidhydrolase MupZ ist verantwortlich für die THP-Bildung in der Mupirocin Biosynthese. Hierbei wurde ebenso der Furanring **70** durch spontane Cyclisierung des von MupW gebildeten Epoxids erhalten. Die Reaktion der beiden Enzyme ist insofern interessant, da die chemisch herausfordernde Funktionalisierung durch MupW an einer inaktivierten Bindung und in Gegenwart von diversen anderen funktionellen Gruppen in der Nähe sehr selektiv abläuft. Ob MupW tatsächlich als Intermediat ein für RIESKE-Oxygenasen ungewöhnliches Epoxid bildet, muss jedoch in weiterführenden Studien noch geklärt werden. Des Weiteren wird der THP-Ring durch MupZ in einer anti-BALDWIN 6-*endo*-tet Cyclisierung gebildet, was eines der wenigen Beispiele darstellt, in denen der nicht begünstigte THP-Ring als bevorzugtes Produkt gebildet wird.<sup>48</sup>

<sup>48</sup> L. Wang, A. Parnell, C. Williams, N. A. Bakar, M. R. Challand, M. W. van der Kamp, T. J. Simpson, P. R. Race, M. P. Crump, C. L. Willis, *Nat. Catal.* **2018**, 968–976.



### 1.3 SAM-abhängige O-Methyltransferasen

SAM-abhängige O-Methyltransferasen gehören zur Klasse I der SAM-abhängigen Methyltransferasen und katalysieren den Transfer der Methylgruppe von S-Adenosylmethionin **71** (SAM) auf ein O-Nukleophil, wie z.B. eine Hydroxyl- oder Carboxylgruppe. Innerhalb der Familie der Methyltransferasen liegt ein hochkonserviertes Motiv für die Bindung des Cofaktors vor, wohingegen ansonsten nur geringe Homologien zwischen den einzelnen Vertretern zu beobachten sind.<sup>49,50</sup>



**Abbildung 6:** O-Methylierte Naturstoffe. Geldanamycin **72** aus *Streptomyces hygroscopicus*<sup>51</sup>, Enterocin **73** aus *Enterococcus faecium*<sup>52</sup>, Aureothin **74** aus *Streptomyces thioluteus*<sup>53</sup>, Colchicin **75** aus *Colchicum autumnale*<sup>54</sup>, Stigmatellin A **76** aus *Stigmatella aurantiaca*<sup>55</sup> rot = von O-Methyltransferasen eingeführte Methylgruppen.

Methyltransferasen sind in der Lage hoch regio- und stereoselektiv Modifikationen an komplexen Naturstoffen zu katalysieren. Diese können sowohl als nachträgliche Modifikationen, als auch bereits während der Biosynthese des Rückgrates stattfinden. So wird

<sup>49</sup> A.-W. Struck, M. L. Thompson, L. S. Wong, J. Micklefield, *ChemBioChem* **2012**, 13, 2642–2655.

<sup>50</sup> L. Wessjohann, A.-K. Bauer, M. Dippe, J. Ley, T. Geißler, in *Appl. Biocatal. Fundam. Sci. Ind. Appl.*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2016**.

<sup>51</sup> W. He, L. Wu, Q. Gao, Y. Du, Y. Wang, *Curr. Microbiol.* **2006**, 52, 197–203.

<sup>52</sup> K. Himeno, K. J. Rosengren, T. Inoue, R. H. Perez, M. L. Colgrave, H. S. Lee, L. Y. Chan, S. T. Henriques, K. Fujita, N. Ishibashi, T. Zendo, P. Wilaipun, J. Nakayama, V. Leelawatcharamas, H. Jikuya, D. J. Craik, K. Sonomoto, *Biochemistry* **2015**, 54, 4863–4876.

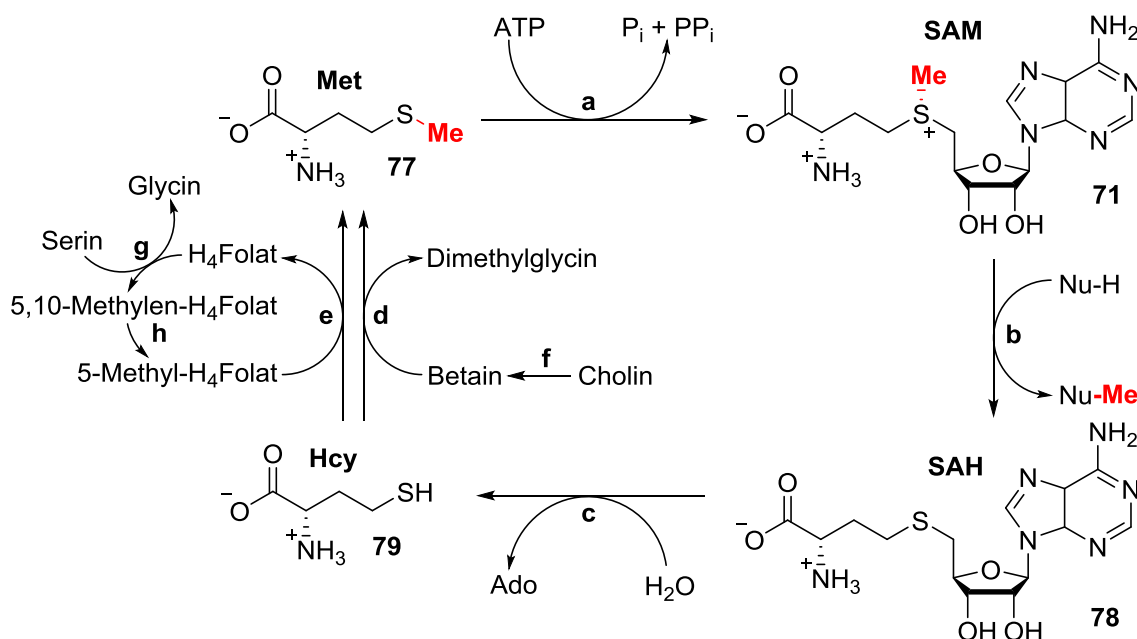
<sup>53</sup> B. Busch, C. Hertweck, *Phytochemistry* **2009**, 70, 1833–1840.

<sup>54</sup> R. J. Cox, A. Al-Fahad, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2013**, 17, 532–536.

<sup>55</sup> N. Gaitatzis, B. Silakowski, B. Kunze, G. Nordsiek, H. Blöcker, G. Höfle, R. Müller, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 13082–13090.

die Methylierung der Methoxygruppen der Alkylseitenkette von Stigmatellin A **76** durch zwei separate *O*-Methyltransferasen durchgeführt. Die phenolischen Hydroxygruppen werden durch eine dritte *O*-Methyltransferase methyliert.<sup>55,56</sup>

Der Methyltransfer von SAM **71** auf das Substrat der Methyltransferase verläuft über einen gut untersuchten S<sub>N</sub>2-artigen Mechanismus, bei dem der starke elektronenziehende Effekt des Sulfoniumzentrums zu einer elektrophilen Aktivierung des Methylsubstituenten führt und den Angriff eines Nucleophils ermöglicht.<sup>57</sup>



**Schema 21:** SAM Biosynthesecyclus. **a)** Methionin-Adenosyltransferase; **b)** Methyltransferase; **c)** Adenosyl-Homocysteinase; **d)** Betain-Homocystein-Methyltransferase; **e)** Methylfolat-Homocystein-Methyltransferase; **f)** Cholindehydrogenase und Betain-Aldehyddehydrogenase; **g)** Serin-Hydroxymethylase; **h)** Methylentetrahydrofolatreduktase. Abb. in veränderter Form übernommen von FINKELSTEIN und WESSJOHANN *et al.*<sup>50,58</sup>

Die *in vivo*-Regeneration von SAM ist eng an den Methionin-Stoffwechselweg gebunden. Nachdem die Methylgruppe durch eine Methyltransferase auf ein Substrat übertragen wurde wird *S*-Adenosylhomocystein **78** (SAH) erhalten. Dieses wird zu Adenosin (Ado) und Homocystein **79** (Hcy) hydrolysiert. Adenosin wird zu Adenosyltriphosphat (ATP) und Homocystein zu Methionin **77** (Met) regeneriert. Die Regeneration des Homocysteins erfolgt hierbei in Verknüpfung mit dem Folat-Stoffwechsel über 5-Methyl-Tetrahydrofolat (5-Methyl-H<sub>4</sub>Folat), wobei durch Übertragung der Methylgruppe Methionin **77** und

<sup>56</sup> M. A. Skiba, M. M. Bivins, J. R. Schultz, S. M. Bernard, W. D. Fiers, Q. Dan, S. Kulkarni, P. Wipf, W. H. Gerwick, D. H. Sherman, C. C. Aldrich, J. L. Smith, *ACS Chem. Biol.* **2018**, 3221–3228.

<sup>57</sup> R. W. Woodard, M. D. Tsai, H. G. Floss, P. A. Crooks, J. K. Coward, *J. Biol. Chem.* **1980**, 255, 9124–9127.

Tetrahydrofolat (H<sub>4</sub>Folat) erhalten wird. Homocystein **79** wird ebenfalls mit Betain als Methylgruppendonor zu Methionin **77** verstoffwechselt.<sup>58</sup>

### 1.3.1 SAM-Analoga

SAM existiert in Form von zwei Diastereomeren in Abhängigkeit von der Konfiguration des chiralen Sulfoniumzentrum. Nur (*S,S*)-SAM zeigt biologische Aktivität, während für (*R,S*)-SAM (gebildet durch Epimerisierung) bisher keine Aktivität als Methyl donor für *O*-Methyltransferasen nachgewiesen werden konnte.<sup>59</sup> Viele Methyltransferasen akzeptieren jedoch Analoga von SAM, in denen die Methylgruppe durch andere Substituenten ausgetauscht wurde. Dies ermöglicht nicht nur die selektive Einführung von alternativen Alkylgruppen, sondern eröffnet ebenfalls die Möglichkeit für eine bioorthogonale Konjugation des Methyltransferaseprodukts mit funktionalen Motiven wie Fluoreszenz- oder Affinitätstags.<sup>60,61</sup> So kann z.B. die Einführung von Alkynylgruppen eine direkte Kupplung über ein 1,3-dipolare Azid-Alkin-Cycloaddition (HUISGEN-Cycloaddition) ermöglichen.<sup>62,63</sup> Aber auch andere Gruppen wie Carbonylfunktionen oder Halogenide lassen sich für die weitere Konjugation nutzen.<sup>64,65</sup> Die chemische Synthese der notwendigen SAM-Analoga liefert häufig nur geringe Ausbeuten mit einem Diastereomerenverhältnis von 1:1, außerdem muss SAH aufwendig abgetrennt werden.<sup>66</sup> Die Verwendung von enzymatischen *in vitro* Methoden ist daher aufgrund der natürlichen Selektivität der beteiligten Enzyme am besten für die Herstellung von SAM geeignet. Methionin-Analoga können von Methionin-Adenosyltransferasen (MATs) zu den entsprechenden SAM-Analoga umgesetzt werden. Die Membrangängigkeit von Methionin-Analoga gegenüber SAM erlaubt zudem die *in vivo* Darstellung von SAM-Analoga.<sup>67</sup>

<sup>58</sup> J. D. Finkelstein, *J. Nutr. Biochem.* **1990**, *1*, 228–237.

<sup>59</sup> H. K. Chenault, E. S. Simon, G. M. Whitesides, *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* **1988**, *6*, 221–270.

<sup>60</sup> M. Thomsen, S. B. Vogensen, J. Buchardt, M. D. Burkart, R. P. Clausen, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 7606–7610.

<sup>61</sup> G. Lukinavicius, V. Lapiene, Z. Stasevskij, C. Dalhoff, E. Weinhold, S. Klimasauskas, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2758–2759.

<sup>62</sup> W. Peters, S. Willnow, M. Duiken, H. Kleine, T. Macherey, K. E. Duncan, D. W. Litchfield, B. Lüscher, E. Weinhold, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5170–5173.

<sup>63</sup> R. Wang, W. Zheng, H. Yu, H. Deng, M. Luo, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7648–7651.

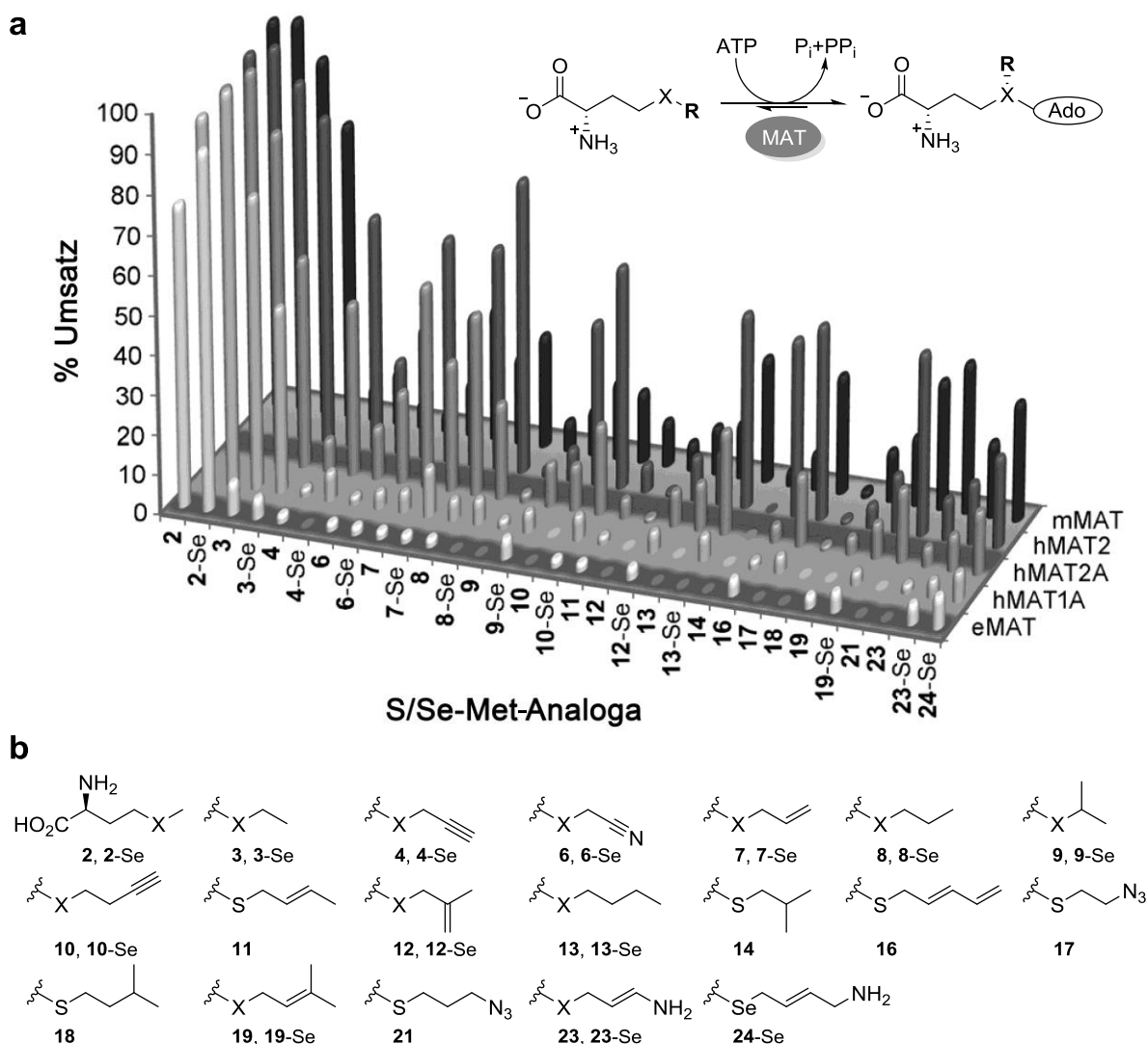
<sup>64</sup> T. Osborne, R. L. W. Roska, S. R. Rajski, P. R. Thompson, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4574–4575.

<sup>65</sup> B. W. K. Lee, H. G. Sun, T. Zang, B. J. Kim, J. F. Alfaro, Z. S. Zhou, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3642–3643.

<sup>66</sup> V. Masevičius, M. Nainytė, S. Klimašauskas, *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* **2016**, *64*, 1.36.1–13.

<sup>67</sup> R. Wang, K. Islam, Y. Liu, W. Zheng, H. Tang, N. Lailier, G. Blum, H. Deng, M. Luo, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 1048–1056.

THORSON *et al.* konnten eindrucksvoll zeigen, dass sich durch die Kombination von synthetisch hergestellten Methionin-Analoga mit einer Auswahl an MATs eine Vielzahl an unterschiedlichen SAM-Analoga darstellen lassen.<sup>68</sup>

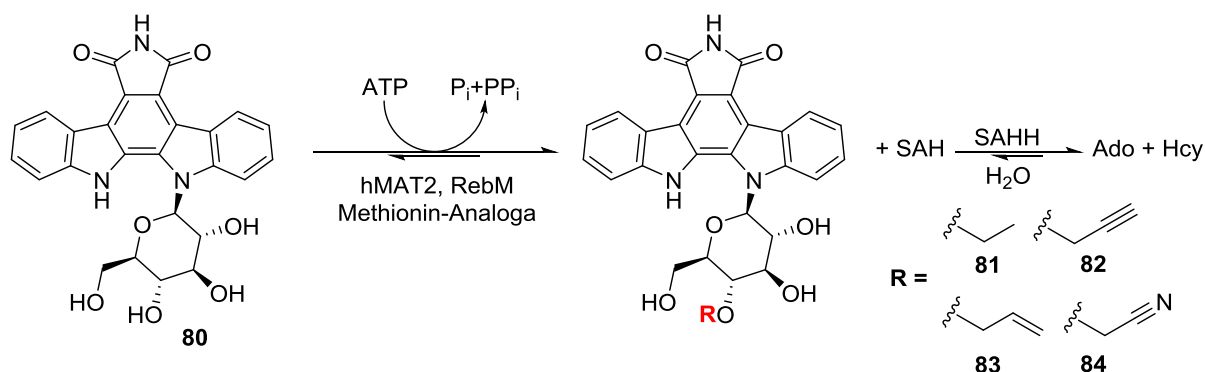


**Abbildung 7:** *In vitro* Synthese von SAM-Analoga: **a)** Umsatz der *S/Se*-Met-Analoga zu den entsprechenden *S(Se)*AM-Analoga katalysiert durch ausgewählte MATs, eMAT = *Escherichia coli* MAT, hMAT1A = katalytische alpha-Untereinheit der humanen MAT I, hMAT2A = katalytische alpha-Untereinheit der humanen MAT II, hMAT2 = katalytische alpha-Untereinheit mit regulatorischer beta-Untereinheit der humanen MAT II, mMAT = *Methanocaldococcus jannaschii* MAT; **b)** Strukturen der verwendeten *S/Se*-Met-Analoga (x = S, Se); Abb. analog zu THORSON *et al.*, Nummerierung der Verbindung entspricht der Nummerierung von THORSON *et al.*<sup>68</sup>

Zusätzlich zu *S*-Methionin-Analoga wurden auch *Se*-Methionin-Analoga untersucht, da *Se*-SAM als besserer Alkyldonor aufgrund der längeren und schwächeren Se-C-Bindung

<sup>68</sup> S. Singh, J. Zhang, T. D. Huber, M. Sunkara, K. Hurley, R. D. Goff, G. Wang, W. Zhang, C. Liu, J. Rohr, S. G. Van Lanen, A. J. Morris, J. S. Thorson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 3965–3969.

angenommen wird.<sup>69</sup> Mit den synthetischen Analoga wurde eine Evaluierung diverser MATs mit bakterieller, archaealer und humaner Herkunft durchgeführt. Eine Übersicht der Substratspezifität der verwendeten MATs ist in Abbildung 7 dargestellt. Das größte Substratspektrum wurde von humaner hMAT2 akzeptiert. Ebenso zeigte die archaeale mMAT eine breite Substratspezifität. Im Allgemeinen resultierten längere Alkylketten, sowie zunehmende Desaturierung in einem niedrigeren Umsatz, wohingegen die *Se*-Analoga in der Regel gegenüber den entsprechenden *S*-Analoga bevorzugt wurden.



**Schema 22:** Derivatisierung von Rebeccamycin-Kongener **80** mit hMAT2/RebM. Verwendete Analoga: **3/3-Se**, **7/7-Se**, **4/4-Se**, **6/6-Se** (siehe Abbildung 7), RebM = Methyltransferase aus der Rebeccamycin-Biosynthese, SAHH = SAH-Hydrolase. Abb. analog zu THORSON *et al.*<sup>68</sup>

Durch die Kombination von der *O*-Methyltransferase RebM aus der Rebeccamycin-Biosynthese mit hMAT2 konnten THORSON *et al.* des Weiteren die Anwendung für eine *in vitro* Derivatisierung („Alkylrandomisierung“) komplexer Naturstoffe am Beispiel von Rebeccamycin-Kongener **80** zeigen. Bemerkenswert ist die breite Substratspezifität von RebM, so konnte unter anderem auch eine bis dahin für Methyltransferasen noch nicht beschriebene Acetonitrilierung erreicht werden.<sup>68</sup>

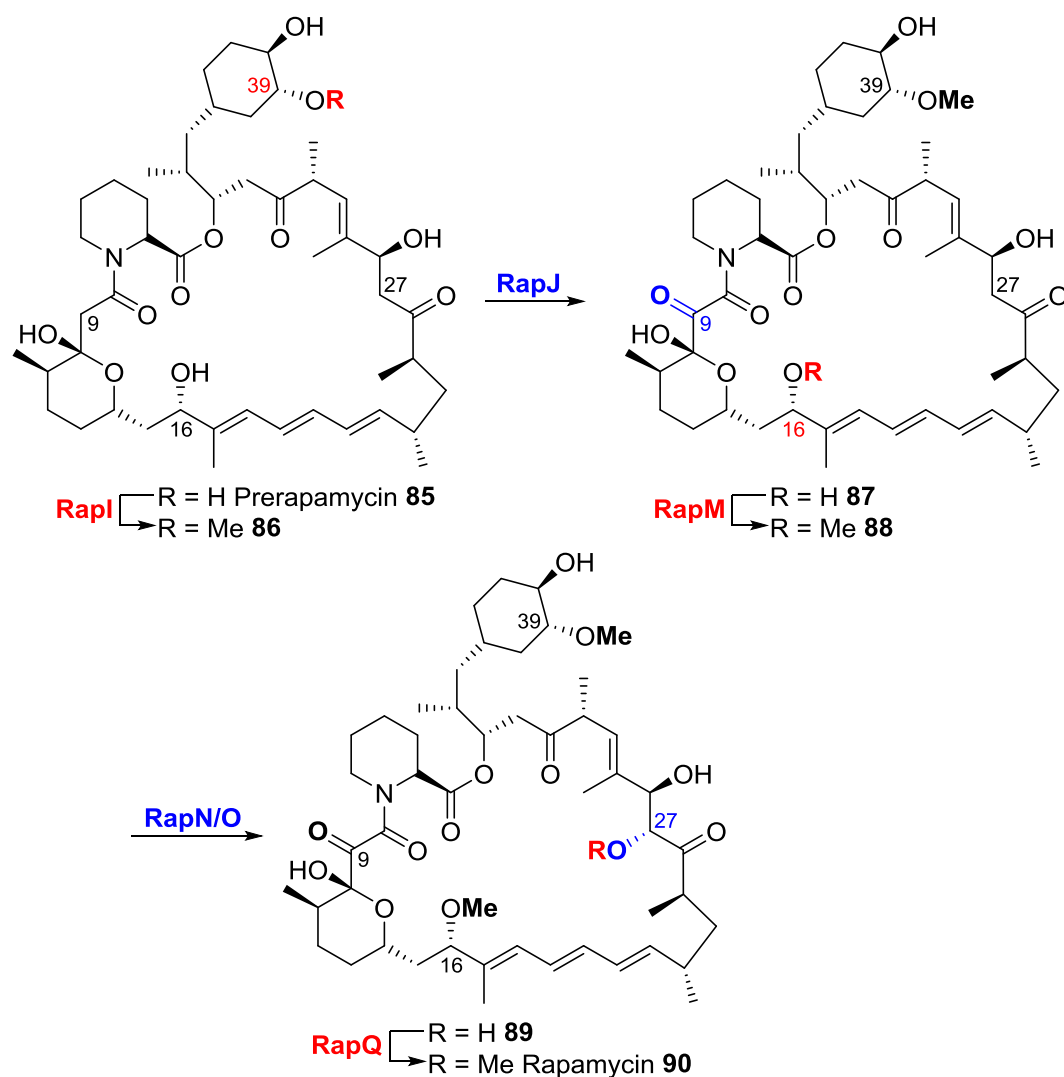
Ein weiteres interessantes Beispiel für die Modifikation eines komplexen Naturstoffes durch *O*-Methyltransferasen findet sich in der Biosynthese von Rapamycin **90**. Rapamycin **90** ist ein von *Streptomyces rapamycinicus* sp. nov. gebildetes antibiotisch wirkendes Polyketid und zudem ein starkes Immunsuppressivum.<sup>70,71</sup> Die Bildung von Rapamycin-Derivaten, sogenannten *Rapalogs*, ist von klinischem Interesse, da diese ein breites Wirkspektrum besitzen.<sup>72</sup>

<sup>69</sup> D. F. Iwig, A. T. Grippe, T. A. McIntyre, S. J. Booker, *Biochemistry* **2004**, *43*, 13510–13524.

<sup>70</sup> Y. Kumar, M. Goodfellow, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2008**, *58*, 1369–1378.

<sup>71</sup> R. N. Saunders, M. S. Metcalfe, M. L. Nicholson, *Kidney Int.* **2001**, *59*, 3–16.

<sup>72</sup> D. Lebowitz, O. Anak, T. Sahmoud, J. Klimovsky, I. Elmroth, T. Haas, J. Posluszny, S. Saletan, W. Berg, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2013**, *1291*, 14–32.



**Schema 23:** Vorgeschlagene Modifikationen von Prerapamycin **85** durch *Tailoring Enzyme*. RapI, RapM und RapQ = *O*-Methyltransferasen verantwortlich für die Methylierung der 16-, 27- und 39-*O*-Position, RapJ und RapN = P450 Monooxygenasen verantwortlich für Einführung der Keto- und Hydroxygruppe an C-9 und C-27, RapO = Ferridoxin. Abb. analog zu MICKLEFIELD *et al.*<sup>73</sup>

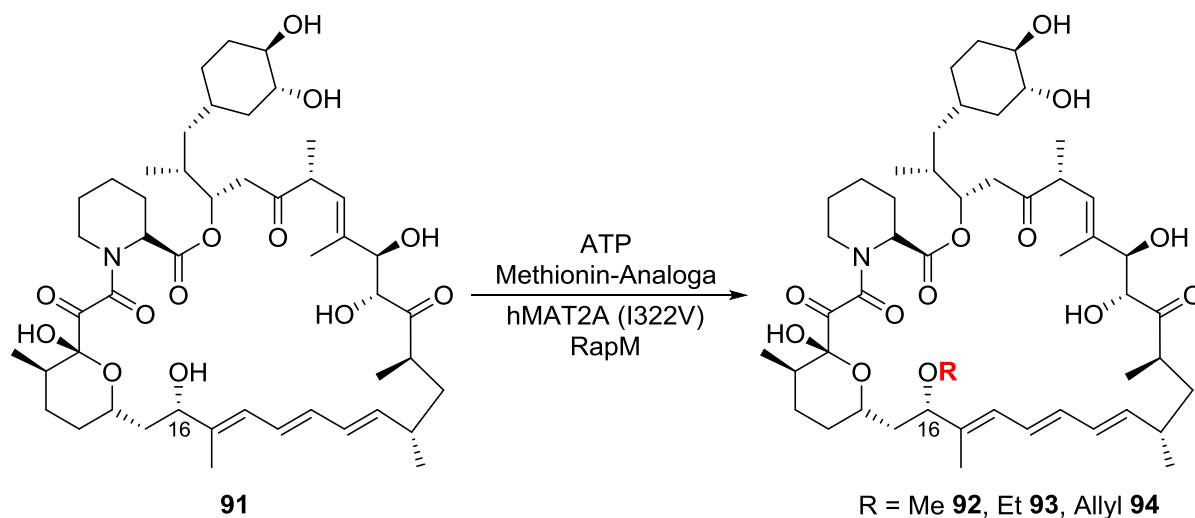
Das makrocyclische Intermediat Prerapamycin **85** wird in der Biosynthese von Rapamycin **90** durch ein PKS/NRPS-System gebildet. Die anschließenden post-PKS-Modifikationen zu Rapamycin **90** umfassen neben der Einführung einer Ketogruppe an C-9 und einer Hydroxygruppe an C-27 durch zwei P450 Monooxygenasen auch drei regioselektive Methylierungen an 16-, 27- und 39-*O* durch die Methyltransferasen RapI, RapM und RapQ.<sup>74</sup>

MICKLEFIELD *et al.* konnten durch die Umsetzung von Prerapamycin **85** und anderer *Rapalogs* mit RapM nicht nur die hohe Regioselektivität der Methyltransferase RapM für die

<sup>73</sup> B. J. C. Law, A.-W. Struck, M. R. Bennett, B. Wilkinson, J. Micklefield, *Chem. Sci.* **2015**, 6, 2885–2892.

<sup>74</sup> M. A. Gregory, H. Hong, R. E. Lill, S. Gaisser, H. Petkovic, L. Low, L. S. Sheehan, I. Carletti, S. J. Ready, M. J. Ward, A. L. Kaja, A. J. Weston, I. R. Challis, P. F. Leadlay, C. J. Martin, B. Wilkinson, R. M. Sheridan, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 3565–3568.

16-*O*-Position in der Biosynthese von Rapamycin **90** zeigen, sondern durch Verwendung des von THORSON *et al.* entwickelten Systems auch eine Diversifizierung bezüglich der 16-*O*-Alkylierung erreichen.<sup>73</sup>



**Schema 24:** Selektive Alkylierung der 16-*O*-Position von 16-,27-,39-tri-*O*-Desmethylrapamycin **91**. Abb. analog zu MICKLEFIELD *et al.*<sup>73</sup>

Durch Punktmutationen im Bereich der Bindungsstelle für SAM von hMAT2A konnte die Toleranz gegenüber größeren *S*-Alkylresten erhöht werden. Hierbei zeigte eine I322V-Mutation die beste Effizienz im Umsatz von L-Methionin, L-Ethionin und *S*-Allyl-L-homocystein zu SAM und den entsprechenden SAM-Analoga im Vergleich mit dem Wildtyp und anderen Mutanten. Die selektive 16-*O*-Alkylierung konnte durch Kombination von hMAT2A (I322V) mit RapM an Prerapamycin **85**, sowie am Rapalog **91** erreicht werden. In der Alkylierungsreaktion mit *in situ* gebildetem SAM, *S*-Adenosylethionin (SAE) und *S*-Adenosylallylhomocystein (SAAH) wurden ausschließlich die 16-*O*-alkylierten Produkte erhalten.<sup>73</sup> Dies zeigt eindrucksvoll das Potential von *O*-Methyltransferasen gegenüber konventionellen synthetischen Methoden für die späte Derivatisierung von komplexen Naturstoffstrukturen mit biologischer Aktivität.

### 1.3.2 Cofaktorregeneration für SAM

Die Verwendung von SAM-abhängigen Methyltransferasen für chemoenzymatische Anwendungen ist durch mehrere Faktoren limitiert. Das unvermeidbare Nebenprodukt der Methylierung, *S*-Adenosylhomocystein (SAH), kann zur Inhibierung der Methyltransferase führen, zudem müssen stöchiometrische Mengen des instabilen Cofaktors SAM verwendet werden.<sup>75,76</sup> Um diese Problematiken zu umgehen wurde von ANDEXER *et al.* ein cyclisches Regenerationssystem für SAM entwickelt.<sup>77</sup> Im Gegensatz zu Regenerationswegen für andere Cofaktoren wie z.B. NAD(P)H ist der SAM-Regenerationsweg kein linearer Prozess, der nur die Hinreaktion umkehrt, sondern besteht aus einem mehrstufigen, cyclischen Prozess.<sup>59</sup> Der Biosyntheseweg von SAM ist hierbei direkt mit dem ATP-Metabolismus verbunden, da die Synthese von SAM nur über ATP erfolgt.<sup>78</sup> Die Verwendung eines cyclischen Regenerationssystems für *in situ* Enzymreaktionen bietet neben einer besseren Ressourceneffizienz, Vermeidung der Akkumulation von Nebenprodukten auch den Vorteil von mehreren Kontrollpunkten für den Prozess.<sup>77</sup>

Lineare Enzymkaskaden für die Generierung für SAM waren der erste Schritt in der Entwicklung eines cyclischen Regenerationssystems für SAM.<sup>79,80</sup> In der von ANDEXER *et al.* beschriebenen Kaskade wird SAM *in situ* durch eine Methionin-Adenosyltransferase (MAT) aus ATP und L-Methionin gebildet. Das während der Methylierung gebildete SAH wird durch enzymatische Spaltung mit einer Methylthioadenosin-Nukleosidase (MTAN) zu Adenin und *S*-Ribosyl-L-homocystein abgebaut. Neben Methionin werden zusätzlich auch stöchiometrische Mengen ATP benötigt, daher ist die Enzymkaskade nur für kleine Maßstäbe geeignet.<sup>79</sup>

In einem biomimetischen Ansatz wurde die lineare Enzymkaskade mit einem Regenerationssystem für ATP gekoppelt.

<sup>75</sup> J. L. Hoffmann, *Biochemistry* **1986**, 25, 4444–4449.

<sup>76</sup> J. K. Coward, E. P. Slisz, *J. Med. Chem.* **1973**, 16, 460–463.

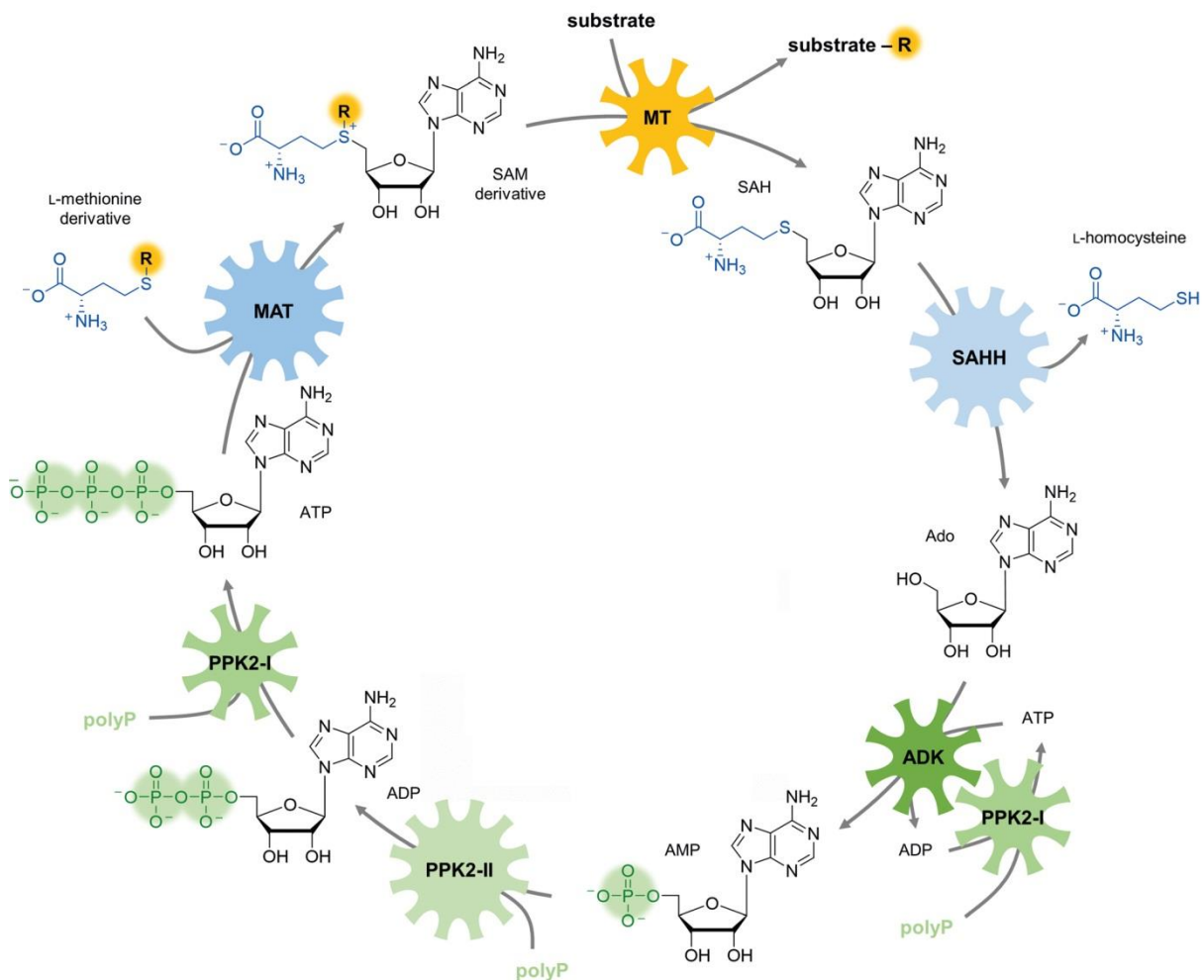
<sup>77</sup> S. Mordhorst, J. Siegrist, M. Müller, M. Richter, J. N. Andexer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56, 4037–4041.

<sup>78</sup> M. Fontecave, M. Atta, E. Mulliez, *Trends Biochem. Sci.* **2004**, 29, 243–249.

<sup>79</sup> J. Siegrist, S. Aschwanden, S. Mordhorst, L. Thöny-Meyer, M. Richter, J. N. Andexer, *ChemBioChem* **2015**, 16, 2576–2579.

<sup>80</sup> F. Muttach, A. Rentmeister, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 1917–1920.





**Schema 25:** SAM-Regenerationscyclus nach ANDEXER *et al.*. Methionin (oder Ethionin) und das entsprechende MT-Substrat wurden in stöchiometrischen Mengen zugegeben, zusammen mit Überschuss an Polyphosphat (polyP) und einer katalytischen Menge AMP (MAT = Methionin-adenosyltransferase, MT = Methyltransferase, SAHH = SAH-Hydrolase, ADK = Adenosinkinase, PPK2-II und PPK2-I = Polyphosphatkinasen). Abb. analog zu ANDEXER *et al.*<sup>77</sup>

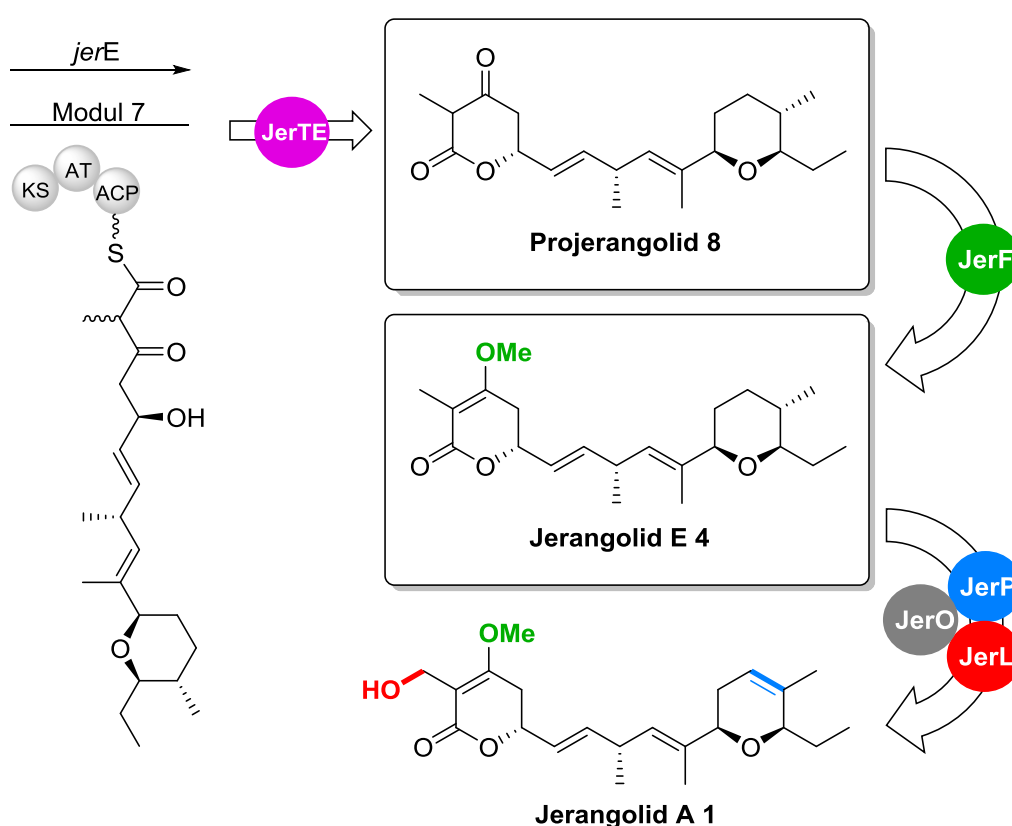
Für die Regeneration von ATP wurde eine Kombination aus Polyphosphatkinasen (PPK2) und Adenosinkinase (ADK) mit Polyphosphat als Phosphatquelle genutzt. Hierbei waren nur geringe, katalytische Mengen von AMP notwendig um den Katalysezyklus zu starten. Adenosin wird in einer ersten Phosphorylierung durch ADK zu AMP umgesetzt, welches durch weitere Phosphorylierungen mit PPK2-II und PPK2-I zu ATP umgewandelt wird. Unter Hydrolyse der Phosphatreste wird L-Methionin auf Adenosin durch eine MAT übertragen. Es ist anzumerken, dass hierbei unter Verwendung von Ethionin auch das entsprechende S-Adenosylethionin (SAE) gebildet werden konnte. In der anschließenden Reaktion mit der Methyltransferase wird die Methylgruppe von SAM auf ein Substrat übertragen und SAH erhalten. SAH kann analog zu der bereits beschriebenen linearen Enzymkaskade mit MTAN

gespalten werden, wodurch eine lineare Enzymkaskade für SAM erhalten wird, mit Adenosin als preiswerterem und stabilerem Vorläufer anstelle von ATP. Um einen vollständigen Regenerationscyclus zu erhalten kann SAH anstelle von MTAN durch eine SAH-Hydrolase (SAHH) gespalten werden. Hierbei wird Adenosin als Startpunkt für einen erneuten Cyclus erhalten und L-Homocystein als einziges Nebenprodukt akkumuliert.<sup>77</sup>

In der regioselektiven Methylierung von Anthranilsäure mit *Rg*ANMT, 3,4-Dihydroxybenzoesäure mit *Rn*COMT, sowie von 3,4-Dihydroxymimtsäure mit *Mx*SafC konnten ANDEXER *et al.* zeigen, dass mit dem aus sechs Enzymen aufgebauten Regenerationscyclus (MAT, MT, SAHH, ADK, PPK2-II, PPK2-I) unter Verwendung von stöchiometrischen Mengen L-Methionin und einem Überschuss an Polyphosphat eine 10-fache Regeneration von SAM für alle Testsysteme erreicht werden konnte. Erwähnenswert ist, dass die lineare Enzymkaskade, welche MTAN anstelle von SAHH verwendet, für alle Testsysteme wesentlich effizienter verlief.<sup>77</sup> Die Möglichkeiten für die Cofaktorregeneration, sowie die Verwendung von SAM-Analoga bilden einen wesentlichen Bestandteil für die weitere Untersuchung von Methyltransferasen für biokatalytische Anwendungen.

## 2. Zielsetzung

Innerhalb der Jerangolid-Biosynthese werden diverse Modifikationen durch die *Tailoring*-Enzyme JerF, JerO, JerP und JerL durchgeführt. Diese Modifikationen bilden die Grundlage für die Diversität der Jerangolid-Familie, deren Mitglieder sich alle auf den postulierten biosynthetischen Vorläufer Projerangolid (**8**) zurückführen lassen. Die *Tailoring*-Enzyme besitzen ein großes Potential für die chemoenzymatische Synthese der Jerangolide, welche die Enzyme der Biosynthese für einen raschen Aufbau von Jerangolid und möglichen Derivaten nutzt. Essentiell für eine detaillierte Untersuchung der *Tailoring*-Enzyme sind die beiden Substrate Projerangolid (**8**) und Jerangolid E (**4**).



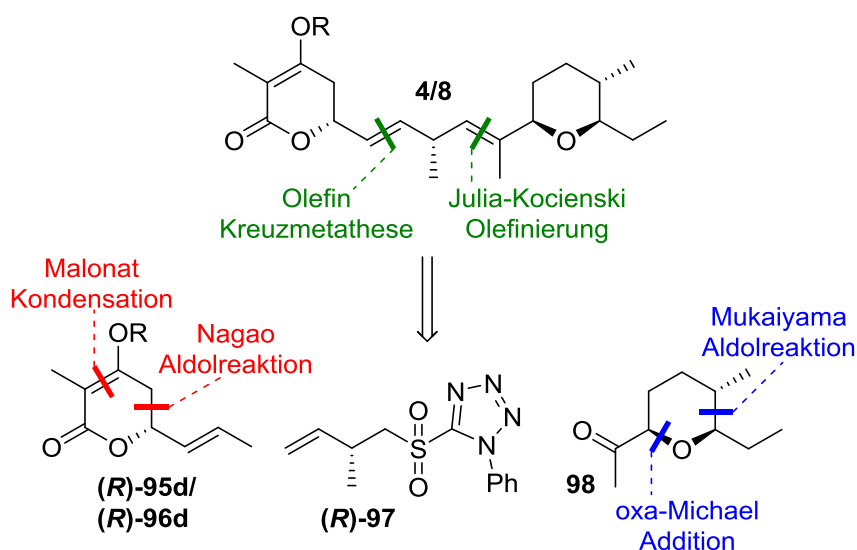
**Schema 26:** Projerangolid (**8**) als biosynthetischer Vorläufer der Jerangolide.

Für die Untersuchung der *Tailoring*-Enzyme sollte der biosynthetische Vorläufer Projerangolid (**8**), sowie Jerangolid E (**4**) dargestellt werden. Im Rahmen der Totalsynthesen sollte außerdem auch der Zugang zu Derivaten der Jerangolide ermöglicht werden. Im Weiteren sollten die *Tailoring*-Enzyme JerO, JerP und JerL in ihrer Funktion an Jerangolid E (**4**) biochemisch charakterisiert werden. Die bereits charakterisierte *O*-Methyltransferase JerF sollte weiter auf ihr Potential für eine biokatalytische Anwendung hin evaluiert werden und zusätzlich dafür genutzt werden die Rolle von Projerangolid (**8**) als biosynthetischer Vorläufer zu bestätigen.

## 3. Ergebnisse und Diskussion<sup>81</sup>

### 3.1 Retrosynthetische Analyse

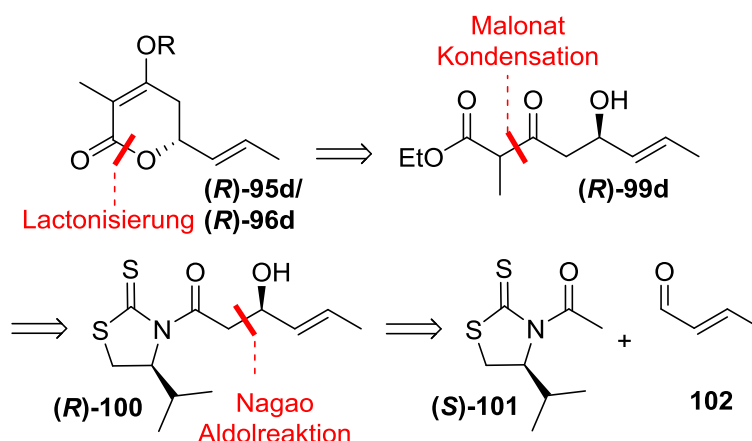
Es wurde nach einer konvergenten Synthese für Jerangolid E (**4**) und dessen biosynthetischen Vorläufer Projerangolid (**8**) gesucht. Homolog zu den Totalsynthesen von HANESSIAN *et al.* und MARKÓ *et al.* (siehe Kapitel 1.1.2) wurde ein modularer Ansatz basierend auf drei Fragmenten gewählt um eine einfache Derivatisierung für weiterführende Studien zu ermöglichen. Während in den Totalsynthesen von Jerangolid A (**1**) und D (**2**) die Reaktivität der Doppelbindung innerhalb des DHP-Rings für die Cyclisierung des Pyranrings ausgenutzt werden konnte, musste für die Synthese von Jerangolid E (**4**) und Projerangolid (**8**) eine andere Herangehensweise gewählt werden, da diese anstelle eines DHP-Rings einen THP-Ring besitzen. Außerdem sind THP-Ringe im Vergleich zu DHP-Ringen sterisch anspruchsvoller, was die Übertragung bereits etablierter Olefinierungsmethoden für den Aufbau der (*E*)-konfigurierten, dreifach substituierten Doppelbindung an C-9 und C-10 erschwert. Zusätzlich besitzt Projerangolid (**8**) ein Vinyldihydropyranon-Motiv, welches deutlich instabiler ist, als ein cyclischer Methylenolether und außerdem nicht über eine JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung oder verwandte Olefinierungsreaktionen gekuppelt werden kann. Daher wurde nach einer alternativen Olefinierungsreaktion gesucht, auch um die beschriebenen instabilen Aldehyde der Methylenolether zu umgehen.<sup>18,20</sup>



**Schema 27:** Retrosynthetische Analyse von Jerangolid E (**4**) (R = Me) und Projerangolid (**8**) (R = H).

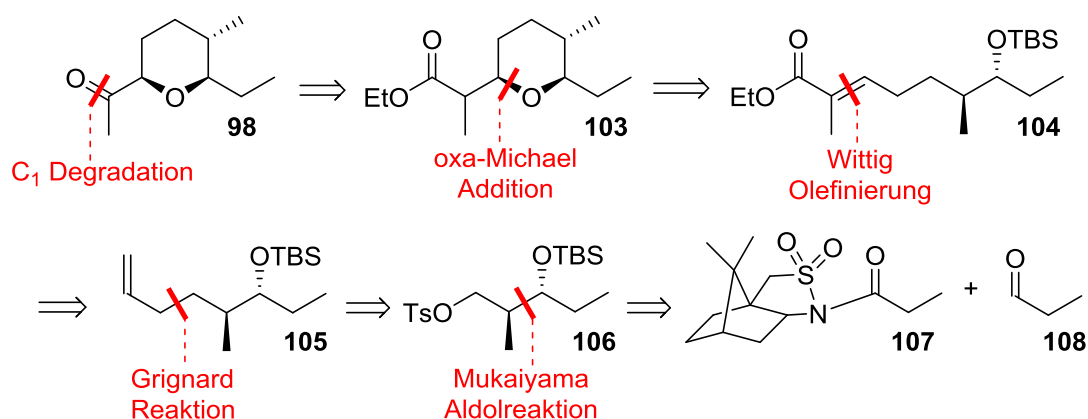
<sup>81</sup> F. Lindner, S. Friedrich, F. Hahn, *J. Org. Chem.* **2018**, 83, 14091–14101.

Jerangolid E (**4**) und Projerangolid (**8**) sollten durch JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung zwischen Methylketon **98** und Homoallylsulfon (*R*)-**97** und anschließender Olefin-Kreuzmetathese mit Vinylacton (*R*)-**95d**/*R*-**96d** dargestellt werden. Weitere Schlüsselschritte umfassen eine Malonat-Kondensation und NAGAO-Aldolreaktion für das Westfragment, sowie eine MUKAIYAMA-Aldolreaktion und oxa-MICHAEL-Addition für das Ostfragment. Die retrosynthetische Analyse der Fragmente ist im Weiteren dargelegt.



**Schema 28:** Retrosynthese des Westfragments (*R*)-**95d**/*R*-**96d**.

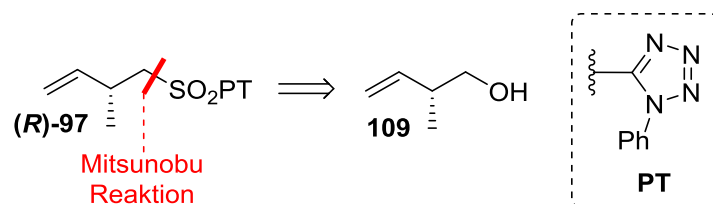
Das Stereozentrum des Westfragments (*R*)-**95d**/*R*-**96d** sollte zunächst durch eine stereoselektive NAGAO-Aldolreaktion zwischen acetyliertem NAGAO-Auxiliar **101** und Crotonaldehyd **102** aufgebaut werden. Das Aldolprodukt sollte danach in einer Malonat-Kondensation nach SMITH *et al.* verlängert werden.<sup>82</sup> Eine abschließende Lactonisierung sollte das Westfragment (*R*)-**95d** von Projerangolid (**8**) und eine nachfolgende Methylierung das Westfragment (*R*)-**96d** von Jerangolid E (**4**) liefern.



**Schema 29:** Retrosynthese des Ostfragments **98**.

<sup>82</sup> T. E. Smith, M. Djang, A. J. Velander, C. W. Downey, K. A. Carroll, S. Van Alphen, *Org. Lett.* **2004**, 6, 2317–2320.

Die Synthese des Ostfragments **98** sollte basierend auf der literaturbekannten Synthese des Pyranrings **103** durchgeführt werden.<sup>15,16</sup> Hierbei werden zuerst die beiden Stereozentren des linearen Vorläufers **104** durch eine *anti*-selektive MUKAIYAMA-Aldolreaktion aufgebaut. Reduktive Abspaltung des OPPOLZER-Sultams und primäre Aktivierung liefern das Tosylat **106**. Dieses wird in einer GRIGNARD-Reaktion mit Allylmagnesiumbromid zu Alken **105** umgesetzt. Nachfolgende Ozonolyse und WITTIG-Olefinierung liefern den linearen Vorläufer **104**, welcher in einer oxa-MICHAEL-Addition zum dreifach substituierten *cis*-Pyranring **103** cyclisiert wird. Ausgehend von Ester **103** sollte über C<sub>1</sub>-Degradation mittels Eliminierung und anschließender Ozonolyse das Ostfragment **98** erhalten werden.

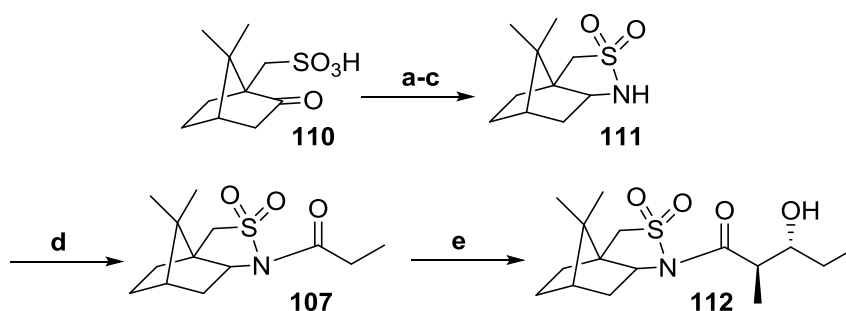


**Schema 30:** Retrosynthese des Mittelfragments (R)-97.

Das Mittelfragment (R)-97 sollte durch eine MITSUNOBU-Reaktion mit anschließender Oxidation zum Sulfon ausgehend vom literaturbekannten Homoallylalkohol **109** dargestellt werden.<sup>83</sup>

### 3.2 Synthese des Ostfragments

Zu Beginn der Synthese des Ostfragments wurde zunächst OPPOLZER-Sultam **111** nach einer literaturbekannten Vorschrift<sup>84</sup> ausgehend von Camphersulfonsäure **110** hergestellt.

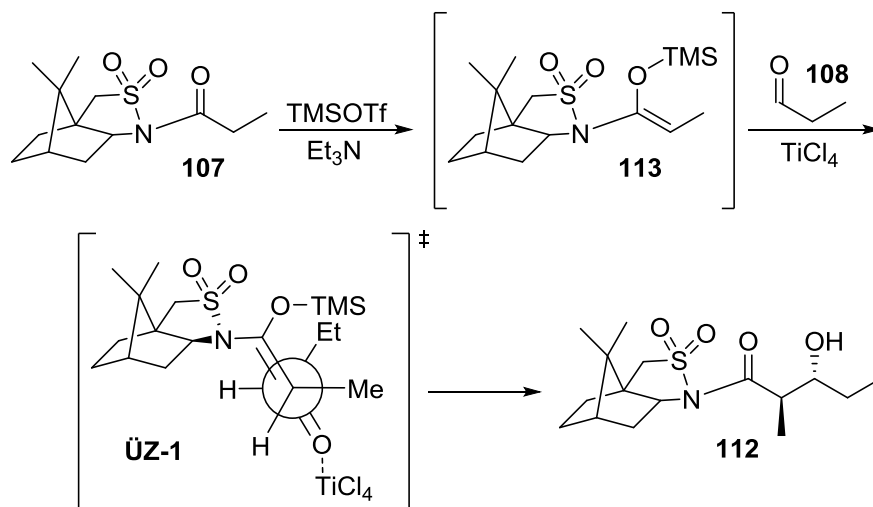


**Schema 31:** Synthese des Aldolprodukts **112** ausgehend von Camphersulfonsäure **110**: **a)** SOCl<sub>2</sub>, 115 °C; **b)** NH<sub>3</sub>, 1,4-Dioxane/H<sub>2</sub>O, -8 °C → RT, 1 h dann 90 °C, 3.5 h; **c)** NaBH<sub>4</sub>, MeOH/H<sub>2</sub>O, 0 °C, 79% über 3 Stufen; **d)** NaH, Propionylchlorid, Toluol, RT, 2 h, 94%; **e)** Et<sub>3</sub>N, TMSOTf, Propionaldehyd, TiCl<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C, 1 h.

<sup>83</sup> R. W. Bates, L. Li, K. Palani, W. Phetsang, J. K. Loh, *Asian J. Org. Chem.* **2014**, 3, 792–796.

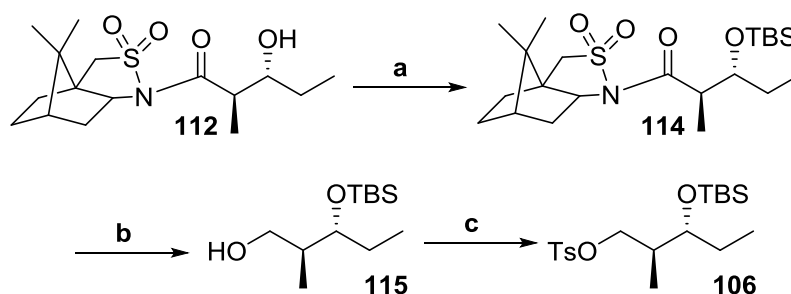
<sup>84</sup> M. Capet, F. David, L. Bertin, J. C. Hardy, *Synth. Commun.* **1995**, 25, 3323–3327.

Das OPPOLZER-Auxiliar **107** wurde mit Propionylchlorid acyliert und schließlich in einer *anti*-selektiven MUKAIYAMA-Aldolreaktion mit Propionaldehyd **108** umgesetzt.



**Schema 32:** Mechanismus der MUKAIYAMA-Aldolreaktion mit offenem Übergangszustand **ÜZ-1**.

Das Sultam **107** wurde zunächst mit TMSOTf und Et<sub>3</sub>N in den Silylenolether **113** überführt, welcher mit Propionaldehyd **108** zum gewünschten Aldolprodukt **112** reagierte. Die Carbonylgruppe ist hierbei durch die Lewisäure TiCl<sub>4</sub> aktiviert und der nukleophile Angriff verläuft über den Übergangszustand **ÜZ-1**. Unabhängig von der Enolatgeometrie wird die Diastereoselektivität durch den sterischen Anspruch der Reste bestimmt, welche sich *anti* zum Sultam orientieren. Gleichzeitig wird durch die Konfiguration und den sterischen Anspruch des Auxiliars die absolute Konfiguration kontrolliert, da bevorzugt ein Rückseitenangriff des Enolats am Propionaldehyd stattfindet. Die Verwendung des (3*aR*,6*S*)-Sultams **107** lieferte die gewünschte (2*R*,3*R*)-Konfiguration des Aldolproduktes **112**.<sup>85</sup>

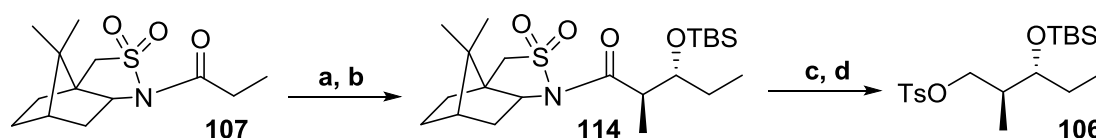


**Schema 33:** Synthese des Tosylats **106** ausgehend von Aldolprodukt **112**: **a)** TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C → RT, 22 h, 64% über 2 Stufen; **b)** LiBH<sub>4</sub>, Et<sub>2</sub>O/MeOH (20:1), 0 °C, 18 h, 64%; **c)** TsCl, Pyridin, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 72 h, 57%.

<sup>85</sup> W. Oppolzer, I. Rodriguez, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 1275–1281.

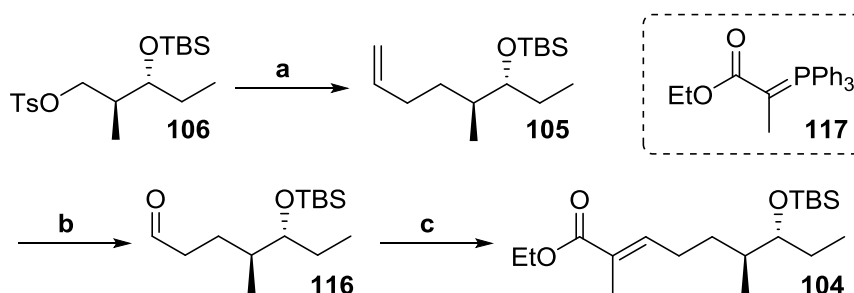
Das Aldolprodukt **112** wurde TBS-geschützt und anschließend mittels  $\text{LiBH}_4$  reduktiv vom Sultam abgespalten. Der so erhaltene (2*S*,3*R*)-Alkohol **115** wurde in das Tosylat **106** überführt.

Da die Reinigung der einzelnen Intermediate bis zum Tosylat **106** zeitintensiv und mit niedrigen Ausbeuten verbunden war, wurde eine Optimierung der Route angestrebt. Im Rahmen dieser wurde DIPEA anstelle von  $\text{Et}_3\text{N}$  in der Aldolreaktion verwendet. Ein wesentlicher Vorteil hierbei war die Bildung von schwerlöslichen Aminiumsalzen während der Enolatbildung mit TMSOTf, die im weiteren Reaktionsverlauf abgetrennt werden konnten.



**Schema 34:** Synthese von Tosylat **106** ausgehend vom propionierten Sultam **107** unter Verwendung von DIPEA bei der Aldolreaktion und ohne vollständige Reinigung der Zwischenprodukte: **a)** DIPEA, TMSOTf, Propionaldehyd,  $\text{TiCl}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 1 h; **b)** TBSOTf, 2,6-Lutidin,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ , 22 h; **c)**  $\text{LiBH}_4$ ,  $\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$  (20:1),  $0^\circ\text{C}$ , 18 h **d)**  $\text{TsCl}$ , Pyridin,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 86 h, 68% über 4 Stufen.

Des Weiteren wurden die Intermediate **114** und **115** nur durch Filtration über Silicagel von Verunreinigungen befreit. Erst Tosylat **106** wurde durch Säulenchromatographie gereinigt. Im direkten Vergleich mit der säulenchromatographischen Reinigung aller Intermediate konnte so die Ausbeute ausgehend vom propionierten Sultam **107** von 36% auf 68% über 4 Stufen gesteigert werden.

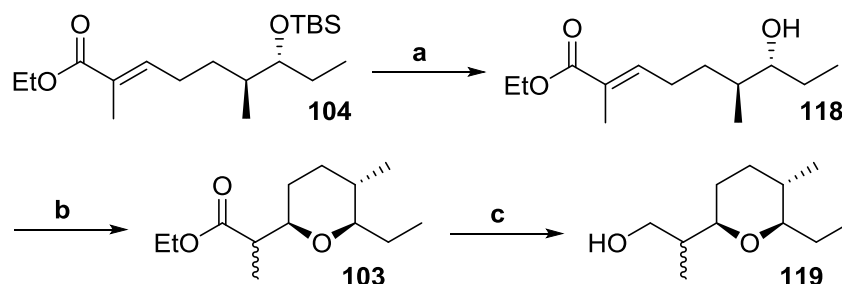


**Schema 35:** Synthese des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ethylesters **104** ausgehend von Tosylat **106**: **a)** Allylmagnesiumbromid,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $50^\circ\text{C}$ , 2.5 h, 98%; **b)**  $\text{O}_3$ ,  $\text{PPh}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 99%; **c)** **117**,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 22 h, 86%.

Tosylat **106** wurde weiter in einer  $\text{S}_{\text{N}}2$ -Substitutionsreaktion mit Allylmagnesiumbromid zum Alken **105** umgesetzt, welches durch Ozonolyse den literaturbekannten Aldehyd **116** in

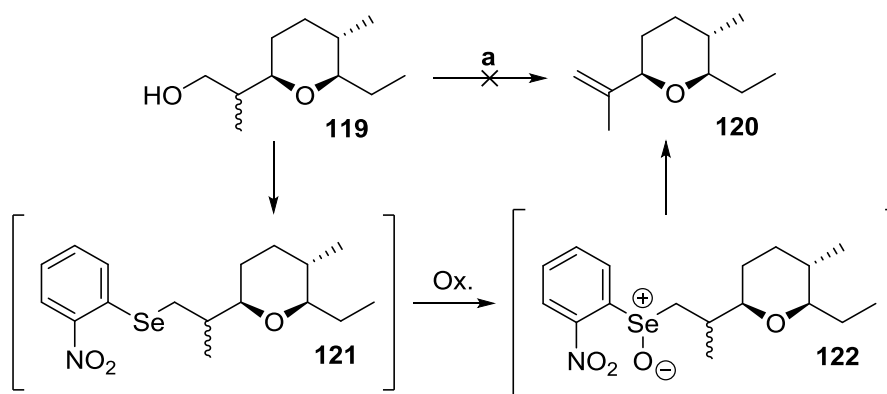


exzellenten Ausbeuten lieferte. Eine anschließende WITTIG-Reaktion mit dem  $\alpha$ -verzweigten WITTIG-Reagenz **117** lieferte unter Aufbau einer dreifach-substituierten (*E*)-Doppelbindung den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ethylester **104**.



**Schema 36:** Cyclisierung und Reduktion des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ethylesters **104**: **a)** PPTS, MeOH, 50 °C, 3 d, 99%; **b)** KO $t$ Bu, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C, 4 h, 89%; **c)** DIBAL-H, THF, 0 °C, 5 h, 99%.

Ethylester **104** wurde unter schwach sauren Bedingungen mittels PPTS entschützt und schließlich mit Kalium-*tert*-butanolat zum dreifach substituierten Pyranring **103** cyclisiert. Die basenvermittelte, intramolekulare oxa-MICHAEL-Addition verlief hierbei mit vollständiger Stereokontrolle an der C-3 Position, sodass nur der *cis*-Pyranring erhalten wurde. An der C-2 Position fand keine Stereokontrolle statt, wodurch **103** als Diastereomergemisch erhalten wurde. Da im weiteren Verlauf der Synthese eine C<sub>1</sub>-Degradation durchgeführt werden sollte, konnte das Gemisch ohne Trennung der Diastereomere zum Alkohol **119** reduziert werden. Die anschließende Eliminierung gestaltete sich jedoch schwieriger als zunächst angenommen.

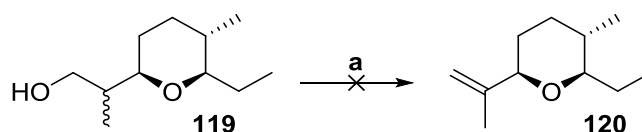


**Schema 37:** GRIECO Eliminierung an Substrat **119**: **a)** *o*-Nitrophenylselenocyanat, Pyridin, *n*Bu<sub>3</sub>P, RT, 16 h, dann H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, RT, 14 h.

Eine geeignete Methode zur Generierung von *exo*-Doppelbindungen stellt die GRIECO-Eliminierung dar.<sup>86,87,88</sup> Hierbei wird zunächst das entsprechende Selenid gebildet, welches

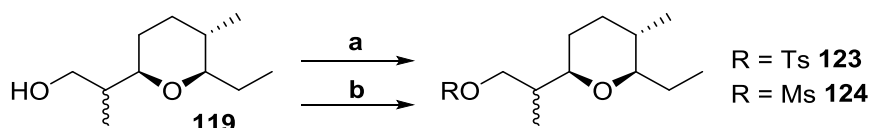
<sup>86</sup> A. B. Smith, K. Basu, T. Bosanac, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 14872–14874.

nach Oxidation zum Selenoxid bei Raumtemperatur spontan eliminiert (Schema 37). In der Reaktion mit Alkohol **119** konnte jedoch das gewünschte Produkt nicht nachgewiesen werden.



**Schema 38:** Eliminierungsreaktion nach SYNDER *et al.* zum terminalen Alken **120**: a)  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-196\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow -97\text{ }^\circ\text{C}$ , 1 h.

Alternativ wurde eine direkte Aktivierung der Hydroxygruppe angestrebt. Hierzu sollte der Alkohol **119** nach einer Vorschrift von SNYDER *et al.* mit Thionylchlorid aktiviert und mit Triethylamin eliminiert werden.<sup>89</sup> Es konnte allerdings keinerlei Reaktion festgestellt werden. Als weitere Möglichkeit wurde die Verwendung eines Sulfonats als Abgangsgruppe in Betracht gezogen.



**Schema 39:** Tosylierung und Mesylierung von Alkohol **119**: a)  $\text{TsCl}$ , Pyridin,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 96 h, 76%; b)  $\text{MsCl}$ , DIPEA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 18 h, 99%.

Daher wurde das entsprechende Tosylat **123** und Mesylat **124** von Alkohol **119** generiert. Die Mesylierung konnte hierbei mit exzellenten Ausbeuten durchgeführt werden, wobei das Mesylat **124** nach einfacher Filtration über Silicagel isoliert werden konnte.

Die Eliminierung wurde an beiden Substraten unter verschiedenen Reaktionsbedingungen getestet. Unter den getesteten Bedingungen (Tabelle 1 und Tabelle 2) konnten allerdings keine geeigneten Bedingungen für die Synthese von Alken **120** gefunden werden.

**Tabelle 1:** Reaktionsbedingungen für die Eliminierung des Tosylats **123**.

Eintrag	Base	Lösungsmittel	Bedingungen	Ergebnis
1	$\text{KO}^t\text{Bu}$ (1.5 Äq.)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	RT, 1 h	Kein Umsatz
2	$\text{KO}^t\text{Bu}$ (3 Äq.)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	$50\text{ }^\circ\text{C}$ , 18 h	Kein Umsatz

<sup>87</sup> P. A. Grieco, M. Nishizawa, *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 1717–1720.

<sup>88</sup> P. A. Grieco, S. Gilman, M. Nishizawa, *J. Org. Chem.* **1976**, 8, 1485–1486.

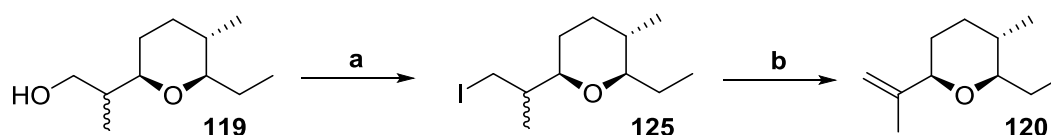
<sup>89</sup> S. A. Snyder, D. S. Treitler, A. P. Brucks, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 14303–14314.

3	KOtBu (3 Äq.)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	80 °C, 72 h	Kein Umsatz
4	DBU (10 Äq.)	Et <sub>2</sub> O	RT, 18 h	Kein Umsatz
5	DBU (10 Äq.)	DMSO	80 °C, 18 h	Zersetzung

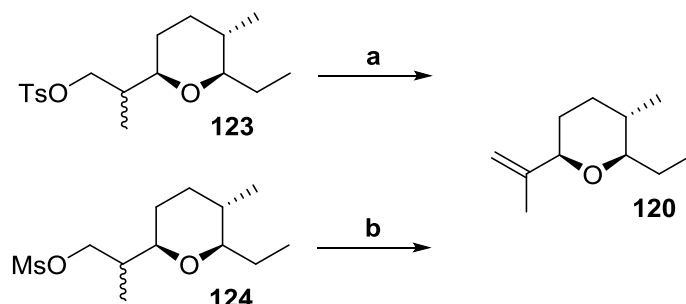
**Tabelle 2:** Reaktionsbedingungen für die Eliminierung des Mesylats **124**.

Eintrag	Base	Lösungsmittel	Bedingungen	Ergebnis
1	DIPEA (1.8 Äq.)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	RT, 2 h	Kein Umsatz
2	Et <sub>3</sub> N (5 Äq.)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	RT, 96 h	Kein Umsatz
3	Et <sub>3</sub> N (5 Äq.)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	64 °C, 48 h	Kein Umsatz
4	NaH (1.5 Äq.)	Toluol	RT, 1 h	Kein Umsatz
5	NaH (3 Äq.)	Toluol	50 °C, 6 h	Kein Umsatz
6	NaH (3 Äq.)	Toluol	50 °C, 12 h	Kein Umsatz
7	NaH (3 Äq.)	Toluol	80 °C, 72 h	Kein Umsatz
8	DBU (10 Äq.)	Et <sub>2</sub> O	RT, 18 h	Kein Umsatz
9	DBU (10 Äq.)	DMSO	80 °C, 18 h	Kein Umsatz
10	DBU (10 Äq.)	DMSO	90 °C, 48 h	In Spuren
11	DBU (10 Äq.)	DMSO	100 °C, 30 min	Zersetzung

Die Ergebnisse legen nahe, dass die gewählten Sulfonate ungeeignet für eine Eliminierung sind. Als weitere alternative Fluchtgruppe wurde daher das zu Alkohol **119** korrespondierende Iodid **125** gewählt.

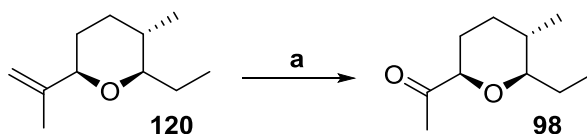
**Schema 40:** Synthese von Iodid **125** mit anschließender Eliminierung: **a)** I<sub>2</sub>, PPh<sub>3</sub>, Imidazol, Toluol, RT, 1 h; **b)** AgF, Pyridin, RT, 12 h.

Alkohol **119** wurde unter Lichtausschluss in das Iodid **125** überführt. Das Iodid **125** wurde aufgrund seiner Instabilität direkt mit Silberfluorid unter basischen Bedingungen umgesetzt.<sup>90</sup> Erfreulicherweise konnte das Produkt in Spuren nachgewiesen werden. Nachdem eine potentielle Fluchtgruppe für die Eliminierung identifiziert werden konnte, wurde eine weitere Optimierung der Reaktionsparameter durchgeführt. Nicht reagiertes Startmaterial ließ darauf schließen, dass die Bildung des Iodids **125** unter den gewählten Bedingungen nicht vollständig ablief. Daher wurde für die ablaufende S<sub>N</sub>2-Reaktion eine bessere Abgangsgruppe gesucht. Aufgrund ihrer gezeigten Stabilität fiel die Wahl auf die bereits synthetisierten Sulfonate **123** und **124**.



**Schema 41:** Synthese von Alken **120**: a) NaI, DMF, 55 °C, 4.5 h, dann DBU, 85 °C, 3 h, 65%; b) NaI, DMF, 53 °C, 18 h, dann DBU, 83 °C, 6 h, 97%.

Aufgrund der Instabilität der Verbindung sollte das Iodid **125** *in situ* erzeugt werden und anschließend direkt eliminiert werden. Ausgehend von Tosylat **123** wurde hierfür nach NARUTA *et al.* zunächst das Iodid **125** gebildet, welches schließlich mit DBU eliminiert wurde.<sup>91,92</sup> Die Umsetzung des Mesylats **124** auf die gleiche Weise lieferte im Vergleich deutlich bessere Ausbeuten.



**Schema 42:** Ozonolyse von Alken **120**: a) O<sub>3</sub>, PPh<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C, 51%.

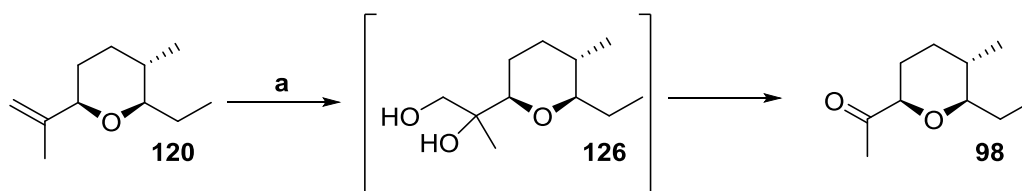
Abschließend konnte das Alken **120** via Ozonolyse in das Methylketon **98** überführt werden. Um die Ausbeute zu steigern wurde als Alternative zur Ozonolyse eine UPJOHN-Dihydroxylierung mit anschließender Periodatspaltung getestet.<sup>93</sup>

<sup>90</sup> R. M. Ide, M. Costa, P. M. Imamura, *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, *17*, 417–420.

<sup>91</sup> Y. Naruta, Y. Nishigaichi, K. Maruyama, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1203–1205.

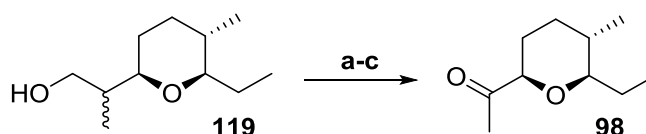
<sup>92</sup> Y. Naruta, Y. Nishigaichi, K. Maruyama, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1991**, 831–839.

<sup>93</sup> V. Van Rhee, R. C. Kelly, D. Y. Cha, *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 1973–1976.



**Schema 43:** Periodatspaltung von Alken **120**: **a)**  $\text{K}_2\text{O}_4\text{Os}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2,6-Lutidin,  $\text{NaIO}_4$ ,  $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$  (3:1), RT, 42 h, 58%.

Die Sequenz zum Abbau des Alkens **120** wurde nach JIN *et al.* durchgeführt.<sup>94</sup> Hierfür wurde *in situ* mit Osmiumtetroxid dihydroxyliert und das Diol **126** mit Natriumperiodat gespalten. Natriumperiodat dient in der Reaktion gleichzeitig als Oxidationsmittel für die oxidative Spaltung des Diols, sowie für die Reoxidation von Os(VI). Unter Verwendung von Dioxan/ $\text{H}_2\text{O}$  anstelle von  $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$  als Lösungsmittelsystem waren geringere Ausbeuten zu verzeichnen. Im Vergleich zur Ozonolyse konnten nur bei sehr langer Reaktionszeit marginale Verbesserungen bezüglich der Ausbeute erreicht werden. Aufgrund dessen und der weniger aufwendigen Reinigung des Ozonolyseprodukts wurde von einer weiteren Verwendung dieser Methodik abgesehen.



**Schema 44:** Degradation von Alkohol **119** zu Methylketon **98**: **a)**  $\text{MsCl}$ , DIPEA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 18 h; **b)**  $\text{NaI}$ , DMF,  $53^\circ\text{C}$ , 18 h, dann DBU,  $83^\circ\text{C}$ , 6 h; **c)**  $\text{O}_3$ ,  $\text{Me}_2\text{S}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 62% über 3 Stufen.

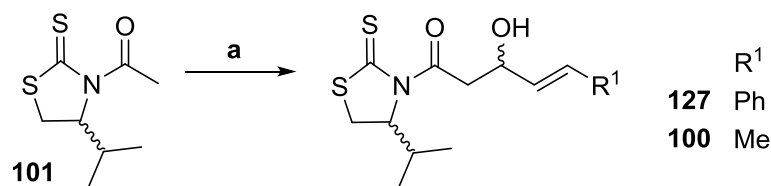
Da sich speziell Alken **120** als sehr instabil und hochflüchtig erwies, wurde die Degradation in einer linearen Sequenz ausgehend von Alkohol **119** durchgeführt, wobei zudem auf intensive Säulenchromatographie verzichtet werden konnte. Hierdurch war es möglich das stabile Methylketon **98** in zufriedenstellenden Ausbeuten von 62% über drei Stufen ausgehend von Alkohol **119** zu synthetisieren.

### 3.3 Synthese der Westfragmente

SMITH *et al.* konnten für die asymmetrische Synthese von (+)-Kavain und anderen Kavalactonen zeigen, dass die Thiazolidinthion-Auxiliare in Produkten der NAGAO-Aldolreaktion durch Kohlenstoffnukleophile substituiert werden können, ohne dass die freie Hydroxygruppe geschützt werden muss.<sup>82</sup> Die erhaltenen  $\delta$ -Hydroxy- $\beta$ -ketoester ließen sich direkt zu den entsprechenden Lactonen cyclisieren. Diese Methode sollte für die Synthese der

<sup>94</sup> W. Yu, Y. Mei, Y. Kang, Z. Hua, Z. Jin, *Org. Lett.* **2004**, 6, 3217–3219.

Westfragmente von Projerangoid **8** und Jerangolid E (**4**) sowie weiterer Derivate genutzt werden.



**Schema 45:** Synthese der Thiazolidinethione **100** und **127**: **a)**  $\text{TiCl}_4$ , DIPEA, Carbonylkomponente,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , 1 h, Ausbeuten in Tabelle 3.

Zunächst wurden durch eine NAGAO-Aldolreaktion die entsprechenden Thiazolidinethione aufgebaut. Die Aldolreaktion wurde hierfür mit Zimtaldehyd und Crotonaldehyd durchgeführt und die benötigten acetylierten Auxiliare (*S*)-**101** und (*R*)-**101** wurden nach literaturbekannten Vorschriften ausgehend von D- bzw. L-Valin synthetisiert.<sup>95,96</sup>

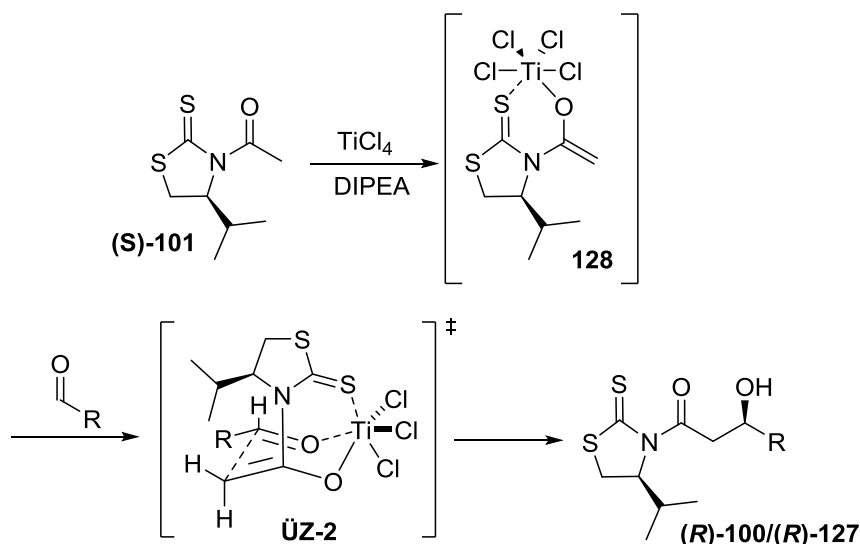
**Tabelle 3:** Ausbeuten für Schema 45.

Eintrag	Auxiliar	Produkt	Ausbeute
1	( <i>S</i> )- <b>101</b>	( <i>R</i> )- <b>127</b>	80%
2	( <i>R</i> )- <b>101</b>	( <i>S</i> )- <b>127</b>	87%
3	( <i>S</i> )- <b>101</b>	( <i>R</i> )- <b>100</b>	75%
4	( <i>R</i> )- <b>101</b>	( <i>S</i> )- <b>100</b>	77%

Durch Verwendung der entsprechenden Auxiliare konnte in allen Fällen hochselektiv (Diastereomerenverhältnis >9:1) das Stereozentrum aufgebaut werden. Die Aldolprodukte wurden jeweils als einzelnes Diastereomer nach säulenchromatographischer Reinigung isoliert und direkt für die anschließende Malonatkondensation verwendet.

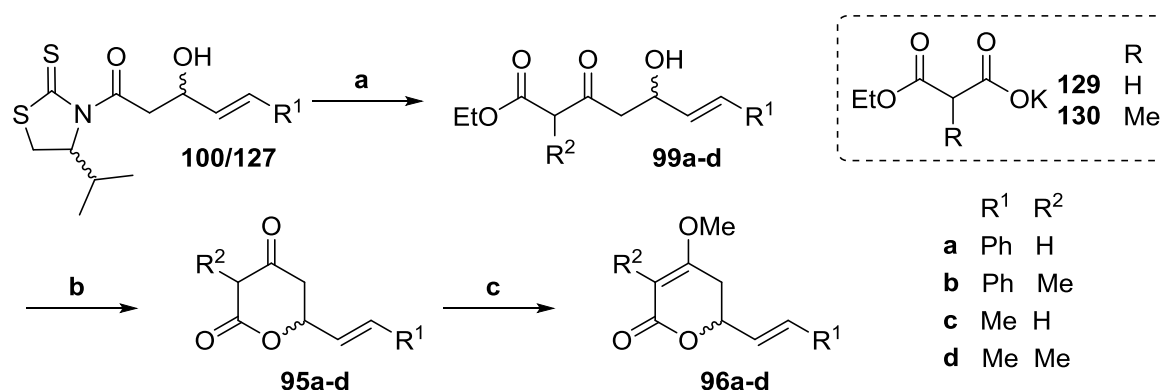
<sup>95</sup> M. J. McKennon, A. I. Meyers, K. Drauz, M. Schwarm, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 3568–3571.

<sup>96</sup> D. Delaunay, L. Toupet, M. L. Corre, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6604–6607.



**Schema 46:** Übergangszustand  $\ddot{\text{U}}\text{Z-2}$  der Acetat-Aldolreaktion mit NAGAO-Auxiliar (S)-101.<sup>97</sup>

Bei der NAGAO-Aldolreaktion wird zunächst das Titanenolat **128** gebildet, welches mit den Aldehyden über den TRAXLER-ZIMMERMANN-Übergangszustand  $\ddot{\text{U}}\text{Z-2}$  zu Aldolprodukt **100** bzw. **127** reagiert. Die Lewisäure  $\text{TiCl}_4$  koordiniert zusätzlich das Thiocarbonyl des Thiazolidinthions, wodurch bevorzugt die Konformation eingenommen wird, bei der der Isopropylrest des Auxiliars zur Minimierung von sterischen Wechselwirkungen vom Aldehyd weggerichtet ist. Aufgrund der erhöhten Nukleophilie des Auxiliars **101** im Vergleich zu Oxazolidinthionen wird unabhängig von weiteren Äquivalenten  $\text{TiCl}_4$  stets bevorzugt das *non*-EVANS *syn*-Produkt gebildet. Die Stereoselektivität kann allerdings durch die Variation der Aminbase beeinflusst werden.<sup>98,99</sup>



**Schema 47:** Malonat-Kondensation mit anschließender Lactonisierung: **a)** Kaliumethylmalonat **129/130**,  $\text{MgCl}_2$ , Imidazol, THF, RT, 18-67 h; **b)**  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeOH, RT, 40 min-2 h oder 2 M KOH, RT, 16 h dann 1 M HCl; **c)**  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Me}_2\text{SO}_4$ , Aceton, RT, 24-40 h; Ausbeuten in Tabelle 4.

<sup>97</sup> M. T. Crimmins, K. Chaudhary, *Org. Lett.* **2000**, 2, 775–777.

<sup>98</sup> M. T. Crimmins, M. Shamszad, *Org. Lett.* **2007**, 9, 149–152.

<sup>99</sup> Y. Nagao, Y. Hagiwara, T. Kumagai, M. Ochiai, T. Inoue, K. Hashimoto, E. Fujita, *J. Org. Chem.* **1986**, 12, 2391–2393.

Die unterschiedlichen Thiazolidine **100** und **127** wurden in einer Malonat-Kondensation mit Kaliumethylmalonat **129** zu den korrespondierenden  $\beta$ -Ketoestern **99** umgesetzt. Durch Verwendung des literaturbekannten Kaliumethylmalonats **130** konnten basierend auf dem Protokoll von SMITH *et al.* zusätzlich auch  $\alpha$ -methylverzweigte  $\beta$ -Ketoester synthetisiert werden.<sup>100</sup> Die anschließende Cyclisierung mit Kaliumcarbonat in Methanol lieferte die Pyrandione **95a-d**. Einen präparativen Vorteil bietet die Verwendung von wässriger 2 M KOH für die Cyclisierung, da nach Ansäuern die Produkte häufig präzipitierten und durch Filtration gewonnen werden konnten. Die Methylenolether **96c-d** wurden durch eine zweistufige Sequenz bestehend aus Lactonisierung und Methylierung ausgehend von den entsprechenden  $\delta$ -Hydroxy- $\beta$ -Ketoestern **99c-d** dargestellt.

**Tabelle 4:** Ausbeuten in Prozent [%] für Schema 47: a) Malonat-Kondensation; b) Lactonisierung; c) Lactonisierung und Methylierung.

Eintrag	Verbindung	Malonat-Kondensation	Lactonisierung <sup>a</sup>	Lactonisierung und Methylierung
1	(R)-95a	40	77	-
2	(S)-95a	71	92	-
3	(S)-95b	56	99	-
4	(R)-96c	84	68	77
5	(S)-96c	81	38	83
6	(R)-96d	quant.	97	94
7	(S)-96d	52	-	92

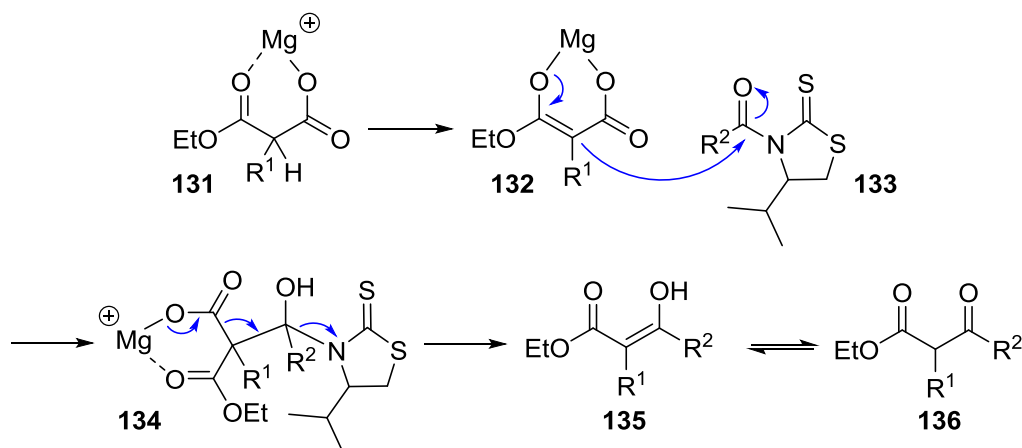
<sup>a</sup> Rohausbeuten

Im Gegensatz zur Malonat-Kondensation mit Kaliumethylmalonat **129** verliefen die Reaktionen mit  $\alpha$ -verzweigtem Kaliummethylethylmalonat **130** deutlich langsamer. Durch Verlängerung der Reaktionszeit auf drei Tage konnte dennoch ein vollständiger Umsatz

<sup>100</sup> Y.-S. Feng, W. Wu, Z.-Q. Xu, Y. Li, M. Li, H.-J. Xu, *Tetrahedron* **2012**, 68, 2113–2120.



erreicht werden. Die Cyclisierung zu den Pyrandionen und korrespondierenden Enolethern konnte in exzellenten Ausbeuten erreicht werden (Tabelle 4, Eintrag 6-7). Die unverzweigten Verbindungen **95c** waren aufgrund ihrer bekannten Instabilität nur schwer zu isolieren, sodass im Vergleich niedrigere Ausbeuten erhalten wurden (Tabelle 4, Eintrag 4-5).<sup>17</sup>



**Schema 48:** Postulierter Mechanismus der Malonat-Kondensation.<sup>101</sup>

Die Malonat-Kondensation verläuft höchstwahrscheinlich nach dem in Schema 48 dargestellten Mechanismus. Die Mg-Chelatisierung führt zur Bildung eines sechsgliedrigen Rings, wodurch es möglich ist, dass der  $pK_{S2}$ -Wert des Malonats stark gesenkt wird. Nach Deprotonierung erfolgt der nukleophile Angriff durch das Dianion **132**, sodass das carboxylierte Intermediat **134** erhalten wird. Dieses reagiert weiter zum  $\beta$ -Ketoester **136**. Alternativ ist es möglich, dass der Angriff an der Acylgruppe mit simultaner Decarboxylierung abläuft.<sup>101,102</sup> Denkbar wäre auch eine intermediäre Bildung von Acylimidazoliden.<sup>103</sup>

### 3.3.1 Synthese eines alternativen Westfragments

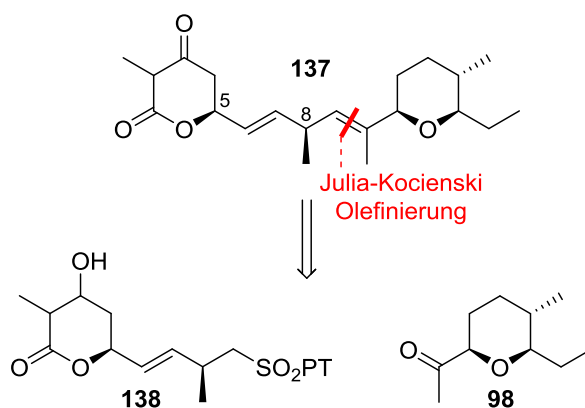
#### 3.3.1.1 Retrosynthese des alternativen Westfragments 138

Zur Untersuchung der Stereoselektivität innerhalb der Biosynthese wurde in einer alternativen Syntheseroute angestrebt die Stereoinformation an C-5 bzw. C-8 von Projerangolid zu variieren.

<sup>101</sup> Y. Kobuke, J. Yoshida, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 19, 367–370.

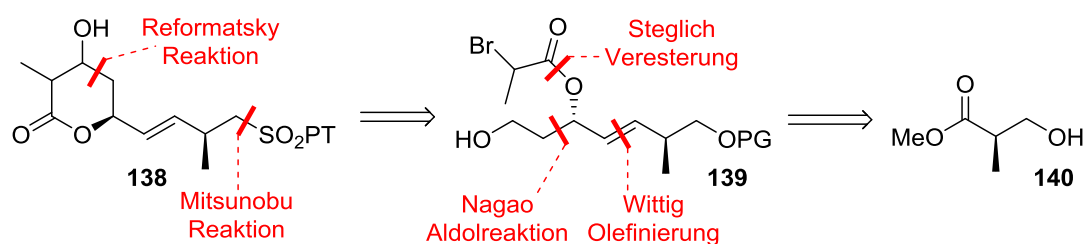
<sup>102</sup> A. I. Scott, C. J. Wiesner, S.-K. Chung, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 21, 6277–6278.

<sup>103</sup> D. W. Brooks, L. D.-L. Lu, S. Masamune, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, 18, 72.



**Schema 49:** Retrosynthese von 5,8-*epi*-Projerangolid (**137**).

Das 5,8-*epi*-Projerangolid (**137**) sollte aus zwei Fragmenten aufgebaut werden, dem alternativen Westfragment **138** und dem bekannten Ostfragment **98**. Das alternative Westfragment sollte neben dem Lacton zusätzlich auch das Mittelfragment umfassen und schließlich über eine JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung mit dem Ostfragment **98** verbunden werden.



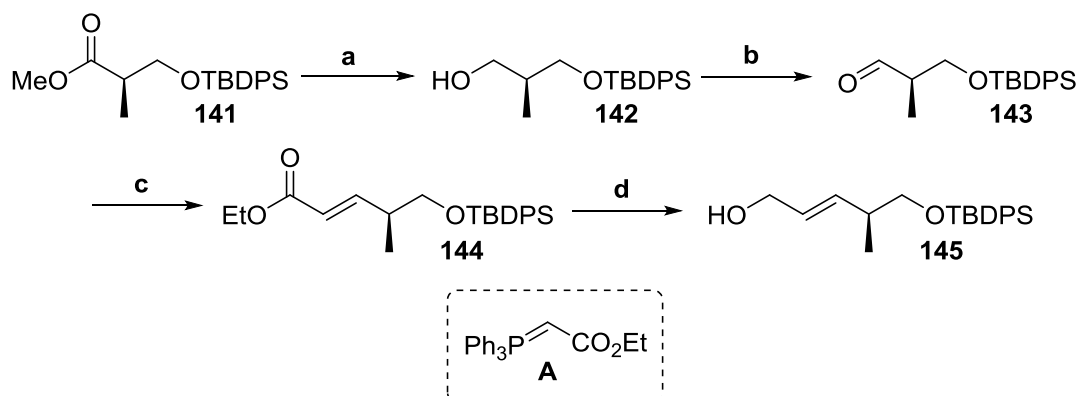
**Schema 50:** Retrosynthese des alternativen Westfragments **138**.

Die Synthese des alternativen Westfragments **138** sollte durch eine Samariumdiodid-vermittelte intramolekulare REFORMATSKY-Reaktion des Vorläufers **139** erreicht werden. Ausgehend vom (*R*)-ROCHE-Ester **140** sollte über eine WITTIG-Olefinierung die (*E*)-Doppelbindung aufgebaut werden. Anschließend sollte durch eine stereoselektive NAGAO-Aldolreaktion das Stereozentrum des Lactons generiert werden. Reduktive Abspaltung des Auxiliars, gefolgt von Acetylierung des sekundären Alkohols mittels STEGLICH-Veresterung sollte den Vorläufer **139** für die intramolekulare REFORMATSKY-Reaktion liefern. Nachfolgend sollte durch MITSUNOBU-Reaktion das Sulfon **138** als alternatives Westfragment dargestellt werden.

### 3.3.1.1 Synthese des alternativen Westfragments **138**

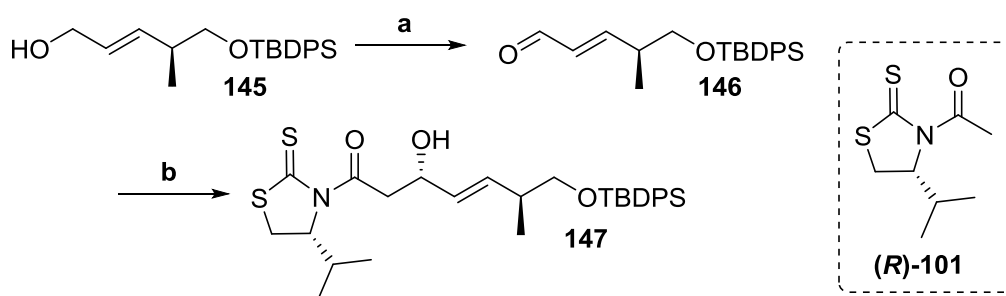
Die Cyclisierung des alternativen Westfragments orientierte sich an einer von SHERMAN *et al.* beschriebenen Synthese ähnlich substituierter Pyrandione, in der ebenfalls eine

Samariumdiiod-vermittelte REFORMATSKY-Reaktion zur Cyclisierung des Lactonmotivs verwendet wurde.<sup>104</sup>



**Schema 51:** Synthese des Alkohols **145** ausgehend vom TBDPS-geschützten (*R*)-ROCHE-Ester **141**: **a**) DIBAL-H, 92%; **b**)  $(\text{COCl})_2$ , DMSO, DIPEA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 1 h dann RT, 2 h; **c**) **A**,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 3 d, 98% über 2 Stufen; **d**) DIBAL-H, THF,  $-78^\circ\text{C}$ , 2 h dann RT, 1 h, 98%.

Zunächst wurde der TBDPS-geschützte (*R*)-ROCHE-Ester **141** mit DIBAL-H zum entsprechenden Alkohol **142** reduziert. Dieser wurde in einer SWERN-Oxidation zum Aldehyd **143** oxidiert, welcher direkt für die nachfolgende Olefinierung nach WITTIG verwendet wurde. Die WITTIG-Reaktion mit dem unverzweigten WITTIG-Reagenz **A** konnte in sehr guten Ausbeuten durchgeführt werden. Das Olefinierungsprodukt wurde anschließend mit DIBAL-H zum Alkohol **145** reduziert.

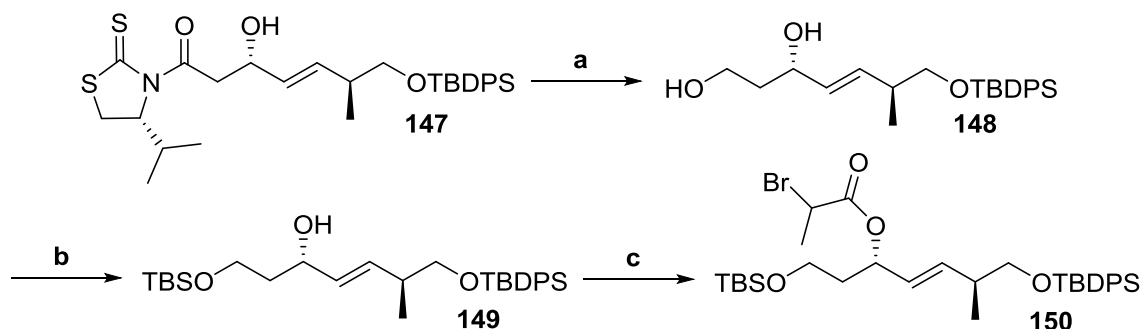


**Schema 52:** NAGAO-Aldolreaktion ausgehend vom Alkohol **145**: **a**)  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 4 h, 99%; **b**) **(R)-101**,  $\text{TiCl}_4$ , DIPEA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 1 h, 79%.

Im nächsten Schritt sollte das zweite Stereozentrum durch eine NAGAO-Aldolreaktion aufgebaut werden. Aldehyd **146** war durch allylische Oxidation mit aktiviertem  $\text{MnO}_2$  ausgehend von Alkohol **145** in sehr guten Ausbeuten zugänglich. Die nachfolgende Aldolreaktion mit dem (*R*)-NAGAO-Auxiliar **(R)-101** lieferte das gewünschte Aldolprodukt **147** in guten Ausbeuten und mit gutem Diastereomerenverhältnis von 9.3:1.

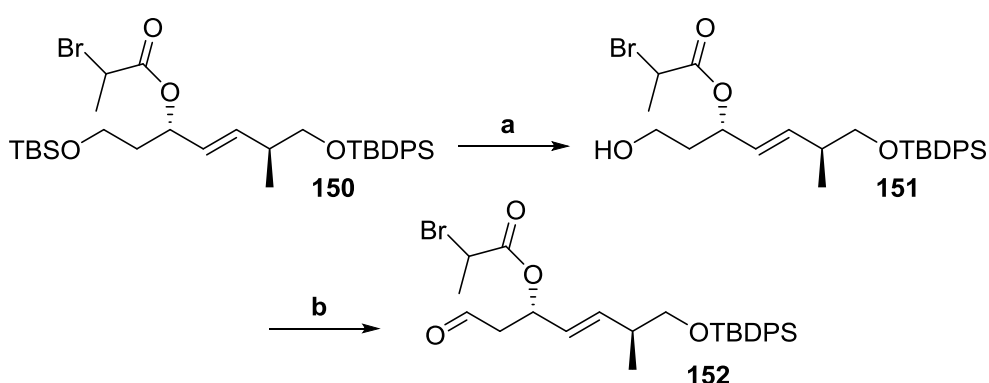
<sup>104</sup> H.-S. Oh, J.-S. Yun, K.-H. Nah, H.-Y. Kang, D. H. Sherman, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3369–3379.

Erfreulicherweise war eine vollständige Trennung der beiden Diastereomere mittels säulenchromatographischer Reinigung möglich.



**Schema 53:** Synthese des  $\alpha$ -Bromesters **150**: **a)**  $\text{LiBH}_4$ ,  $\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$  (20:1),  $0^\circ\text{C}$ , 18 h, 99%; **b)** TBSCl, Imidazol,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 1.5 h, 87%; **c)** 2-Brompropionsäure, DIC, DMAP,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 40 min, 99%.

Nach Abspaltung des Auxiliars unter reduktiven Bedingungen mit Lithiumborhydrid wurde selektiv die primäre Hydroxygruppe des erhaltenen Diols **148** TBS-geschützt. Anschließend wurde die sekundäre Alkoholfunktion in einer STEGLICH-Veresterung mit 2-Brompropionsäure verestert. Mit DCC oder EDC als Kupplungsreagenz für die Veresterung konnten nur moderate Ausbeuten erzielt werden. So konnte bei der Verwendung von DCC trotz vollständigen Umsatzes nur 65% Ausbeute erhalten werden und der Einsatz von EDC führte neben niedrigen Ausbeuten mit 34% zusätzlich noch zu deutlich erkennbarer Zersetzung des Startmaterials. Mit DIC als Kupplungsreagenz hingegen verlief die Veresterung mit exzellenten Ausbeuten von 99%.



**Schema 54:** Synthese des Aldehyds **152**: **a)** CSA, MeOH,  $0^\circ\text{C}$ , 1 h, 92%; **b)** siehe Tabelle 5.

Den Schlüsselschritt in der Synthese von Fragment **138** stellt die intramolekulare REFORMATSKY-Reaktion dar. Als Vorbereitung wurde der  $\alpha$ -Bromester **150** unter sauren Bedingungen entschützt und für die Oxidation des erhaltenen Alkohols **151** unterschiedliche Oxidationsmittel getestet.

**Tabelle 5:** Oxidationsbedingungen für Alkohol **151**.

Eintrag	Reagenzien	Lösungsmittel	Bedingungen	Ergebnis
1	DMP (1.5 Äq.), NaHCO <sub>3</sub> (2 Äq.)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	RT, 30 min	53%
2	DMP (2 Äq.), NaHCO <sub>3</sub> (3 Äq.)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0 °C, 30 min → RT, 2 h	93%
3	DMP (1.2 Äq.)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	RT, 30 min	44%
4	(COCl) <sub>2</sub> , DMSO, Et <sub>3</sub> N	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-78 °C → RT, 2 h	In Spuren
5	TPAP, NMO, 4 Å MS	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0 °C, 2 h	48%
6	PDC	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	RT, 18 h	Kein Umsatz
7	TEMPO, NaOCl, KBr	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> pH 8.6 Puffer (NaHCO <sub>3</sub> )	0 °C, 30 min	Zersetzung
8	SO <sub>3</sub> *Pyr, DIPEA	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /DMSO (2:1)	0 °C, 80 min	Oxidation/Esterhydrolyse (88%)

Es zeigte sich, dass von den getesteten Oxidationsmitteln DESS-MARTIN-Periodinan (DMP) am besten für die Oxidation des Systems **151** geeignet ist (Tabelle 5, Eintrag 2).<sup>105</sup> Dies deckt sich mit den von SHERMAN *et al.* beschriebenen Ergebnissen für ähnliche Systeme.<sup>104</sup>

Eine SWERN-Oxidation (Tabelle 5, Eintrag 4) lieferte im Vergleich nur sehr stark verunreinigten Aldehyd.<sup>106,107</sup> Wurde eine LEY-GRIFFITH Oxidation mit TPAP durchgeführt, so wurden nur Ausbeuten von 48% zusammen mit Zersetzungsprodukten beobachtet.<sup>108</sup> Beim

<sup>105</sup> D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, 22, 4155–4156.

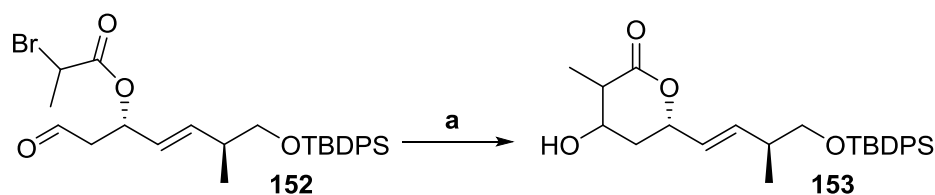
<sup>106</sup> K. Omura, D. Swern, *Tetrahedron* **1978**, 34, 1651–1660.

<sup>107</sup> T. T. Tidwell, *Synthesis* **1990**, 1990, 857–870.

<sup>108</sup> W. P. Griffith, S. V. Ley, G. P. Whitcombe, A. D. White, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1987**, 1625–1627.

Einsatz von PDC als Oxidationsmittel konnte auch nach längerer Reaktionszeit kein Umsatz festgestellt werden.<sup>109</sup> Im Kontrast hierzu wurde bei der Verwendung von TEMPO innerhalb kürzester Zeit eine vollständige Zersetzung des Startmaterials erreicht (Tabelle 5, Eintrag 7). Unter PARIKH-DÖRING-Bedingungen fand neben der Oxidation eine sehr saubere Spaltung des Esters statt (Tabelle 5, Eintrag 8).<sup>107,110</sup>

Das für die DESS-MARTIN-Oxidation verwendete DMP wurde nach einer literaturbekannten Vorschrift frisch hergestellt.<sup>111,112</sup> Durch geringfügige Optimierung der Reaktion konnte Aldehyd **152** in hervorragenden 93% Ausbeute erhalten werden. Die nachfolgende REFORMATSKY-Reaktion sollte durch  $\text{SmI}_2$  vermittelt werden. Die Verwendung von  $\text{SmI}_2$  ermöglicht die Umsetzung bei sehr milden Bedingungen und mit hoher Stereoselektivität.<sup>113,114</sup> Für die Herstellung einer  $\text{SmI}_2$ -Lösung wurde zunächst nach dem Protokoll von KAGAN *et al.* elementares Samarium mit Diiodmethan in THF umgesetzt.<sup>115</sup> Da jedoch auf diese Art nur sehr kurzlebige Lösungen erhalten wurden, wurde stattdessen die Methode nach IMAMOTO *et al.* angewandt, bei der  $\text{SmI}_2$  durch Elementarsynthese aus Samarium und Iod in THF generiert wird.<sup>116</sup>



**Schema 55:** Ringschluss an **152** mit  $\text{SmI}_2$ -Lösung: **a)**  $\text{SmI}_2$ , THF,  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , 1.5 h, 82%, *d.r* 1.1:1.

Mit frisch hergestellter  $\text{SmI}_2$ -Lösung war es möglich die REFORMATSKY-Reaktion an Aldehyd **152** durchzuführen. Die Reaktion konnte durch Verwendung von kommerziell erhältlicher 0.1 M  $\text{SmI}_2$ -Lösung in THF (Lieferant: ABCR) zuverlässig und mit etwas höheren Ausbeuten reproduziert werden. Dies ist überraschend, da in der Literatur berichtet wird, dass kommerzielle Lösungen variable Ergebnisse und niedrige Ausbeuten liefern.<sup>117</sup> SZOSTAK *et al.* berichten allerdings darüber, dass kommerzielle Lösung eine deutlich geringere

<sup>109</sup> E. J. Corey, G. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20, 399–402.

<sup>110</sup> J. R. Parikh, W. v. E. Doering, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 21, 5505–5507.

<sup>111</sup> M. Frigerio, M. Santagostino, S. Sputore, *J. Org. Chem.* **1999**, 12, 4537–4538.

<sup>112</sup> R. E. Ireland, L. Liu, *J. Org. Chem.* **1993**, 10, 2899.

<sup>113</sup> R. M. Moslin, T. F. Jamison, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 15106–15107.

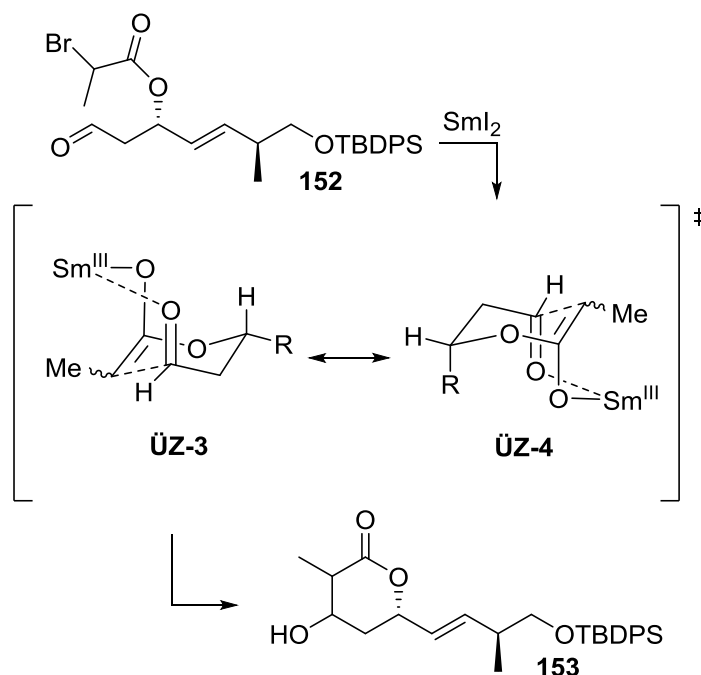
<sup>114</sup> K. C. Nicolaou, S. P. Ellery, J. S. Chen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 7140–7165.

<sup>115</sup> P. Girard, J. L. Namy, H. B. Kagan, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 2693–2698.

<sup>116</sup> M. Ono, T. Imamoto, *Chem. Lett.* **1987**, 501–502.

<sup>117</sup> G. N. Sheldrake, N. Soissons, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 789–791.

Konzentration aufweisen als beworben.<sup>118</sup> Unter Berücksichtigung dieser Untersuchungen, wurde die kommerzielle SmI<sub>2</sub>-Lösung im deutlichen Überschuss verwendet.



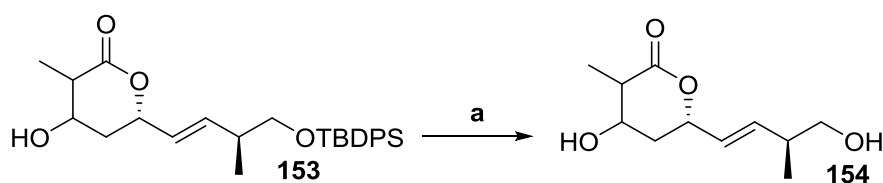
**Schema 56:** Postulierte Übergangszustände **ÜZ-3** und **ÜZ-4** der SmI<sub>2</sub>-vermittelten REFORMATSKY-Reaktion von  $\beta$ -Bromoacetoxyacetyl **152**.

Die Cyclisierung erfolgt höchstwahrscheinlich über die Übergangszustände **ÜZ-3** und **ÜZ-4**. Nach MOLANDER *et al.* ist die Bildung der beiden konkurrierenden Sessel-Übergangszustände gegenüber den entsprechenden Boot-Konformationen favorisiert. Die Diastereoselektivität der intramolekularen Cyclisierung von  $\beta$ -Bromoacetoxyacetylen mit SmI<sub>2</sub> wird wesentlich durch das Substitutionsmuster des erhaltenen Rings beeinflusst. Ebenso ist die Einbindung des kontrollierenden Stereozentrums in das Sm-(III)-Chelat wesentlich für die Diastereokontrolle verantwortlich.<sup>119</sup> Die niedrige Diastereoselektivität in der Reaktion von **152** mit SmI<sub>2</sub> deutet jedoch darauf hin, dass keine ausgeprägte Vorzugskonformation für den Übergangszustand eingenommen wird.

Die Stereokontrolle war für die Synthese des Westfragments **138** nicht notwendig, da die erhaltene Hydroxyfunktion am Ende der Synthese zur Carbonylgruppe des Pyrandions von 5,8-epi-Projerangolid (**137**) oxidiert werden sollte. Die Synthese wurde daher mit dem Diastereomerengemisch fortgeführt.

<sup>118</sup> M. Szostak, M. Spain, D. J. Procter, *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 3049–3059.

<sup>119</sup> G. A. Molander, J. B. Etter, L. S. Harring, P. J. Thorel, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 8036–8045.



**Schema 57:** Entschützung von Alkohol **153**: a) siehe Tabelle 6.

Um den geschützten Alkohol **153** in das entsprechende Sulfon für die JULIA-KOCIENSKI-Reaktion zu überführen sollte zunächst die TBDPS-Schutzgruppe entschützt werden. Aufgrund der Empfindlichkeit des erhalten Diols **154** wurden mehrere Bedingungen getestet.

**Tabelle 6:** Entschützungsbedingungen für Alkohol **153**.

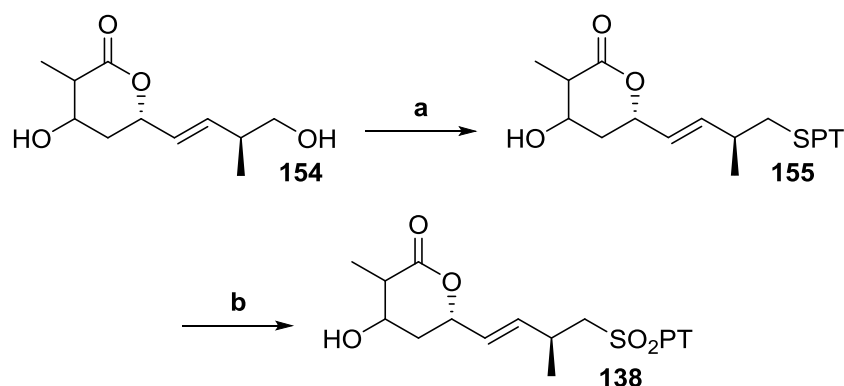
Eintrag	Reagenzien	Bedingungen <sup>a</sup>	Ausbeute
1	TBAF (1 M in THF, 1 Äq.)	0 °C → RT, 16 h	Zersetzung
2	TBAF (0.1 M in THF, 1 Äq.)	-78 °C → RT, 3.5 h	~10%
3	TBAT (0.15 M in THF, 1 Äq.)	-78 °C → RT, 5 h	36%
4	TBAT (2.9 Äq.)	-78 °C → RT, 24 h	70%
5	TBAT (3 Äq.)	-78 °C → RT, 16 h	73%
6	TBAF (0.1 M in THF, 3.6 Äq.)	-78 °C → RT, 3.5 h	43%
7	TBAT (4 Äq.)	-5 °C, Zugabe über 5 h → RT, 29 h	53%

<sup>a</sup> Alle Reaktionen wurden in THF durchgeführt.

Bei der Entschützung mit TBAF (Tetrabutylammoniumfluorid) als Fluoridquelle war eine gleichzeitige Zersetzung des entschützten Alkohols **154** zu beobachten. Dies wurde unter anderem auf die Basizität von TBAF zurückgeführt. TBAT (Tetrabutylammoniumdifluortriphenylsilicat) ist im Vergleich zu TBAF weniger basisch und besitzt zudem den



Vorteil, dass es als nicht hygroskopischer Feststoff eingesetzt werden kann.<sup>120</sup> Die Entschützung verlief unter Verwendung von TBAT mit zufriedenstellenden Ausbeuten (Tabelle 6, Eintrag 5).

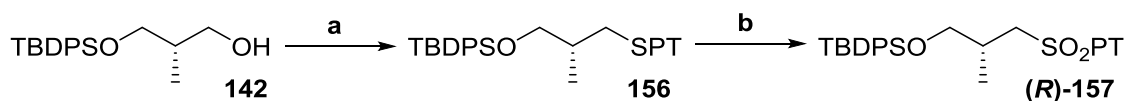


**Schema 58:** Synthese des Sulfons **138**: **a**) PT-SH, PPh<sub>3</sub>, DIAD, THF, RT, 1 h; **b**) Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, EtOH, RT, 18 h, 25% über 2 Stufen.

Nach erfolgter Entschützung wurde Alkohol **154** in einer MITSUNOBU-Reaktion umgesetzt und zu Sulfon **138** oxidiert. Das Sulfon **138** konnte hierbei nur in geringen Ausbeuten erhalten werden. Aufgrund der Instabilität des Lactonmotivs unter basischen Bedingungen war eine nachfolgende JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung mit dem alternativen Westfragment **138** und Ostfragment **98** nicht möglich.

### 3.4 JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung

Um geeignete Bedingungen für die JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung an Ostfragment **98** zu finden sollten zunächst unterschiedliche Sulfone evaluiert werden.

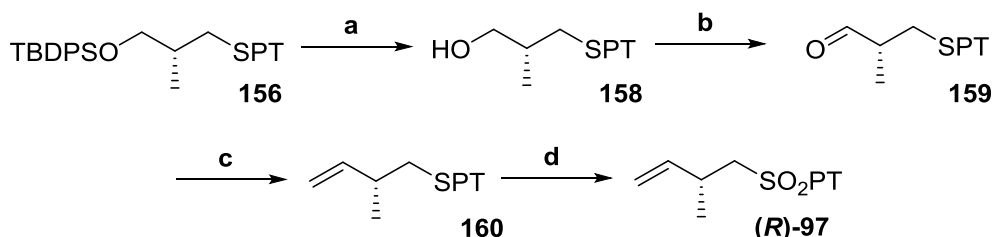


**Schema 59:** Synthese von Sulfon (**R**)-**157** ausgehend von Alkohol **142**: **a**) PT-SH, PPh<sub>3</sub>, DIAD, THF, RT, 1 h, 93%; **b**) Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, EtOH, RT, 18 h, 99%.

Sulfon (**R**)-**157** war durch eine MITSUNOBU-Reaktion ausgehend von, vom (*R*)-ROCHE-Ester abgeleiteten, Alkohol **142** zugänglich. HANESSIAN *et al.* berichteten für die Olefinierung mit Phosphonamiden am DHP-Fragment von Jerangolid A (**1**) darüber, dass bei Verwendung eines (*S*)-konfigurierten Mittelfragments eine höhere *E/Z*-Selektivität erhalten wurde, als mit dem richtig konfigurierten (*R*)-Enantiomer.<sup>20</sup> Um zu untersuchen ob bei der JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung am weniger rigiden THP-Fragment **98** eine ähnliche Selektivität zu

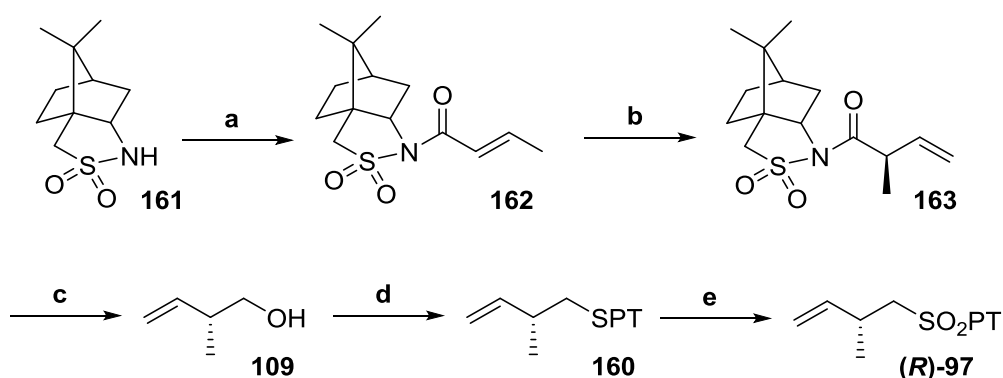
<sup>120</sup> A. S. Pilcher, P. DeShong, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6901–6905.

beobachten ist, wurde ebenso das (*S*)-Enantiomer von Sulfon **157** mit einer Ausbeute von 87% über 2 Stufen hergestellt (siehe Kapitel 5.2.2).



**Schema 60:** Synthese von Sulfon (*R*)-**97**: **a**) TBAF, THF, RT, 2 h, 94%; **b**) DMP, NaHCO<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C, 2 h; **c**) MePPh<sub>3</sub>Br, *n*-BuLi, THF, 0 °C, 30 min, 63% über 2 Stufen; **d**) Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, EtOH, RT, 25 h, 74%.

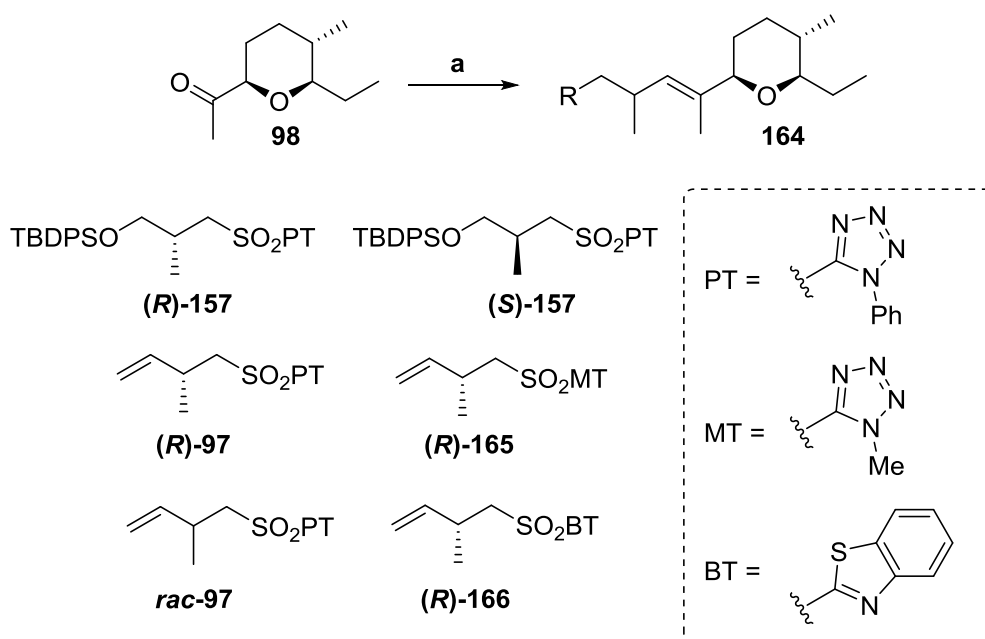
Das Homoallylsulfon (*R*)-**97** sollte als terminales Olefin nach erfolgreicher JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung eine direkte Kreuzmetathese ohne weitere Modifizierung ermöglichen und zudem den sterischen Anspruch der TBDPS-Schutzgruppe oder vergleichbarer Silylschutzgruppen umgehen. Das Sulfon (*R*)-**97** wurde zunächst simultan zum TBDPS-geschützten Sulfon **157** ausgehend vom TBDPS-geschützten Thioether **156** dargestellt. Nach Entschützung konnte der Alkohol analog zur Synthese des literaturbekannten Enantiomers in das Sulfon (*R*)-**97** überführt werden.<sup>121</sup> DESS-MARTIN-Oxidation mit anschließender WITTIG-Olefinierung ergab den Homoallylthioether **160** und anschließende Oxidation lieferte das entsprechende Sulfon (*R*)-**97**. Da die Synthese ausgehend vom (*R*)-ROCHE-Ester als zu lang angesehen wurde und nur mittelmäßige Ausbeuten erhalten wurden, wurde im weiteren Verlauf der Arbeiten nach einem alternativen Zugang für das Mittelfragment gesucht.



**Schema 61:** Synthese von Alkohol **109**: **a**) Crotonsäure, DMAP, DCC, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 3 d, 48%; **b**) LiHMDS, HMPA, THF, -78 °C, 45 min, dann MeI, THF, -78 °C, 85 min, 87%; **c**) LAH, Et<sub>2</sub>O, 0 °C, 4.5 h → RT, 1 h, 73%; **d**) PT-SH, PPh<sub>3</sub>, DIAD, THF, RT, 1.5 h; **e**) Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, EtOH, RT, 20 h, 88% über 2 Stufen.

<sup>121</sup> C. Jasper, R. Wittenberg, M. Quitschalle, J. Jakupovic, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2005**, 7, 479–482.

Einen direkteren Zugang für das Homoallylsulfon (**R**)-**97** bietet eine MITSUNOBU-Reaktion am entsprechenden literaturbekannten Homoallylalkohol **109**.<sup>83</sup> Der Homoallylalkohol **109** konnte analog zur Synthese des Enantiomers nach BREIT *et al.* ausgehend vom OPPOLZER-Sultam **161** im Multigramm-Maßstab dargestellt werden.<sup>122</sup> Die anschließende MITSUNOBU-Reaktion mit 5-Mercapto-1-phenyltetrazol und Oxidation lieferte das Sulfon (**R**)-**97** in guten Ausbeuten von 88%.



**Schema 62:** JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung mit unterschiedlichen Sulfonen: **a)** siehe Tabelle 7.

Zusätzlich wurden ausgehend vom Alkohol **109** auch das sterisch weniger anspruchsvolle Methyltetrazol-Sulfon **165**, sowie das für eine modifizierte JULIA-Olefinierung gedachte Benzothiazol-Sulfon **166** synthetisiert. Außerdem wurde ausgehend von (*R/S*)-2-Methylbut-3-en-1-ol *rac*-**97** analog zu (**R**)-**97** dargestellt.

Mit den hergestellten Sulfonen (**R**)-**97**, *rac*-**97**, (**R**)-**157**, (**S**)-**157**, (**R**)-**165** und (**R**)-**166** wurde eine Evaluierung der JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung am Methylketon **98** durchgeführt. Hierbei lag das Augenmerk zunächst darauf, Bedingungen als Basis für eine weitere Reaktionsoptimierung zu identifizieren. Die getesteten Bedingungen sind in Tabelle 7 dargestellt.

<sup>122</sup> S. Wünsch, B. Breit, *Chem. - Eur. J.* **2015**, *21*, 2358–2363.

**Tabelle 7:** Testbedingungen für JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung an Methylketon **98**.

Eintrag	Sulfon	Base	Bedingungen	Ergebnis
1	<b>(R)-157</b>	KHMDS	18-Krone-6, THF, -78 °C → -15 °C, 4 h	< 3%
2	<b>(R)-157</b>	LiHMDS	THF, -40 °C → RT, 3 h	< 1%
3	<b>(S)-157</b>	<i>n</i> -BuLi	THF, -78 °C → RT, 2.5 h	< 5%
4 <sup>a</sup>	<b>(S)-157</b>	KHMDS	18-Krone-6, THF, -78 °C → 0 °C, 1 h	< 8%
5	<b>(S)-157</b>	KHMDS	18-Krone-6, THF -40 °C → RT, 2 h	< 1%
6	<b>(S)-157</b>	LiHMDS	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -40 °C → RT, 4 h	< 2%
7	<b>(R)-97</b>	LiHMDS	HMPA, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -40 °C → RT, 4 h	Kein Produkt
8	<b>(R)-97</b>	LiHMDS	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -40 °C → RT, 17 h	26%, <i>E/Z</i> 2.6:1
9	<b>rac-97</b>	KHMDS	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -40 °C → RT, 2 h	Kein Produkt
10	<b>rac-97</b>	LiHMDS	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -40 °C → RT, 2 h	35%, <i>E/Z</i> 1:1
11	<b>(R)-165</b>	LiHMDS	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -40 °C → RT, 15 h	Kein Produkt
12	<b>(R)-166</b>	LiHMDS	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -40 °C → RT, 15 h	Kein Produkt

<sup>a</sup> Reaktion fand unter BARBIER-Bedingungen statt.

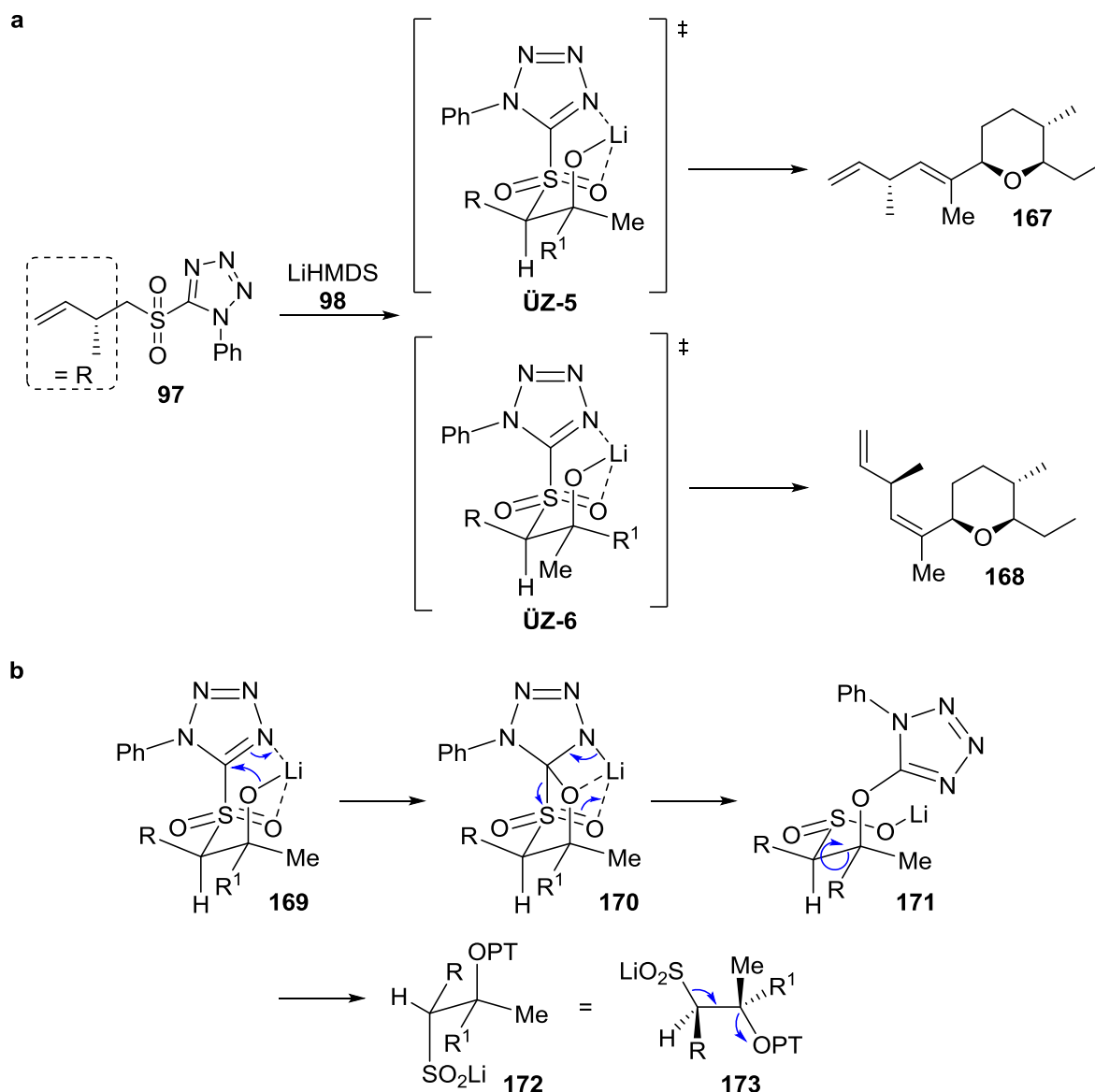
Mit den TBDPS-geschützten Sulfonen **157** wurden unter allen getesteten Bedingungen nur sehr geringe Mengen an Produkt erhalten (Tabelle 7, Eintrag 1-6). Dies lässt sich auf den hohen sterischen Anspruch der TBDPS-Gruppe zurückführen. Es wurde zudem vermutet, dass der weniger rigide THP-Ring im Vergleich zum DHP-Ring einen stärkeren sterischen Anspruch während des Übergangszustandes der Reaktion ausübt, da Berichten zufolge eine JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung am entsprechenden DHP-Fragment mit LiHMDS in

Dichlormethan das entsprechende Produkt mit einer *E/Z*-Selektivität von 3:1 lieferte.<sup>120</sup> Nennenswerte Produktbildung konnte nur in der Reaktion mit Homoallylsulfon **97** festgestellt werden (Tabelle 7, Eintrag 8 und 10). Bei Substituierung der Phenylgruppe gegen eine Methylgruppe konnte kein Produkt nachgewiesen werden (Tabelle 7, Eintrag 11). Ebenso führte eine modifizierte JULIA-Olefinierung mit dem Benzothiazolsulfon **166** zu keiner Produktbildung (Tabelle 7, Eintrag 12).

Bemerkenswert ist, dass in der Reaktion mit dem Sulfon **97** nur unter Verwendung von LiHMDS als Base und Dichlormethan als unpolares Lösungsmittel nennenswerte Produktmengen erhalten werden konnten. HMPA ist dafür bekannt, dass es die Reaktionen von Organolithiumverbindungen positiv beeinflusst, da es unter anderem zu einer Solvatisierung der Lithiumionen führt.<sup>123,124</sup> Bei Zugabe von HMPA war jedoch keine Reaktion zum Olefinierungsprodukt festzustellen (Tabelle 7, Eintrag 7). Eine Solvatisierung der Lithiumionen würde eine mögliche Koordinierung innerhalb des Übergangszustandes erschweren. Dies kann als Indiz dafür angesehen werden, dass die JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung zwischen Sulfon **97** und Methylketon **98** über einen geschlossenen Übergangszustand verläuft.

<sup>123</sup> H. J. Reich, *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 5471–5491.

<sup>124</sup> F. E. Romesberg, M. P. Bernstein, J. H. Gilchrist, A. T. Harrison, D. J. Fuller, D. B. Collum, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3475–3483.



**Schema 63:** a) Mögliche Übergangszustände für die JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung mit Sulfon **97** an Keton **98**; b) Mechanismus der Olefinierung nach Addition des Sulfonylanions am Beispiel von Übergangszustand **ÜZ-5**.  $R^1$  = THP-Ring von Keton **98**.

Nach Addition des Sulfonylanions an Methylketon **98** verläuft die Reaktion somit vermutlich über den geschlossenen Übergangszustand **ÜZ-5/6**, in dem das Lithiumion chelatisiert ist. Nach SMILES-Umlagerung wird je nach Übergangszustand das *anti*- oder *syn*-Produkt erhalten, welches zum entsprechenden Alken eliminiert.<sup>125</sup>

Nachdem mit dem Homoallylsulfon **97** ein geeignetes Sulfon für die JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung ermittelt werden konnte, wurde eine weitere Optimierung der Reaktionsparameter angestrebt. Die Ergebnisse der Optimierungsarbeiten sind in Tabelle 8 dargestellt.

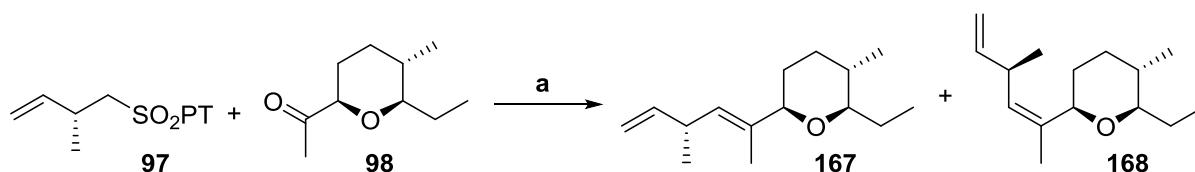
<sup>125</sup> P. R. Blakemore, W. J. Cole, P. J. Kociński, A. Morley, *Synlett* **1998**, 1998, 26–28.

**Tabelle 8:** Optimierung der Reaktionsparameter der JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung an Methylketon **98**.

Eintrag	Bedingungen <sup>a</sup>	Ansatzgröße	Ausbeute	E/Z
1	1.05 Äq. LiHMDS -78 °C → 0 °C, 5 h	20 mg	57%	2.1:1
2	1.3 Äq. LiHMDS -40 °C → RT, 17 h	17 mg	26%	2.6:1
3	1.4 Äq. LiHMDS -40 °C → -20 °C, 3 h	10 mg	n/a	3.2:1
4 <sup>b</sup>	1.2 Äq. LiHMDS, 0.5 Äq. CeCl <sub>3</sub> -40 °C → RT, 4 h	10 mg	66%	1.5:1
5	1.6 Äq. LiHMDS, 0.4 Äq. CeCl <sub>3</sub> -40 °C → RT, 6 h	18 mg	73%	2.3:1
6	1.6 Äq. LiHMDS, 0.4 Äq. CeCl <sub>3</sub> -20 °C → RT, 5 h	29 mg	54%	2.3:1
7	1.3 Äq. LiHMDS, 0.8 Äq. CeCl <sub>3</sub> -20 °C, 5 d	54 mg	45% <sup>c</sup>	2.8:1
8	1.3 Äq. LiHMDS, 0.7 Äq. CeCl <sub>3</sub> , -40 °C → RT, 20 h	60 mg	54%	2.0:1
9	1.3 Äq. LiHMDS, 0.6 Äq. CeCl <sub>3</sub> -40 °C → RT, 17 h	100 mg	61%	2.1:1
10	1.3 Äq. LiHMDS, 0.6 Äq. CeCl <sub>3</sub> -40 °C → RT, 17 h	200 mg	45%	1.8:1

<sup>a</sup> Alle Reaktionen wurden in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> mit 1.2 Äq. Sulfon (**R**)-**97** und 1.0 Äq. Keton **98** durchgeführt; <sup>b</sup> Reaktion fand unter BARBIER Bedingungen statt; <sup>c</sup> Es konnte kein Keton **98** reisoliert werden.

Das (*E*)-konfigurierte Olefin **167** konnte mit einer Selektivität von bis zu 3.2:1 erhalten werden (Tabelle 8, Eintrag 3). Eine Aktivierung der Carbonylgruppe des Methylketons **98** über eine Lewissäure sollte den nukleophilen Angriff des Sulfonylanions erleichtern und durch die erhöhte Reaktivität des Systems die Ausbeuten verbessern. SASAKI *et al.* beschrieben bereits den positiven Einfluss von Cer-(III)-chlorid für die JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung mit Methylketonen innerhalb der Totalsynthese von (+)-Gamberinsäure.<sup>126,127</sup> Erfreulicherweise konnte durch die Zugabe von nur 0.4 Äquivalenten Cer-(III)-chlorid die Ausbeute auf 73% mit einem *E/Z*-Verhältnis von 2.3:1 gesteigert werden (Tabelle 8, Eintrag 5). Es war möglich die Reaktion bis zu einer Ansatzgröße von 100 mg mit vertretbaren Verlusten bezüglich der Ausbeute und Selektivität zu skalieren. In fast allen Ansätzen konnte nicht umgesetztes Keton **98** nahezu vollständig reisoliert und für weitere Reaktionen wiederverwendet werden.



**Schema 64:** Optimierte JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung mit Sulfon (*R*)-**97** und Keton **98**: a) siehe Tabelle 8, Eintrag 5.

Die (*E/Z*)-Isomere **167/168** konnten durch Säulenchromatographie voneinander getrennt werden, sodass das gewünschte (*E*)-Isomer **167** mit einer Ausbeute von 51% und das (*Z*)-Isomer **168** mit einer Ausbeute von 22% erhalten wurden. Das (*Z*)-Isomer **168** konnte für die Synthese von nicht-natürlichen Naturstoffderivaten genutzt werden (Kapitel 3.5).

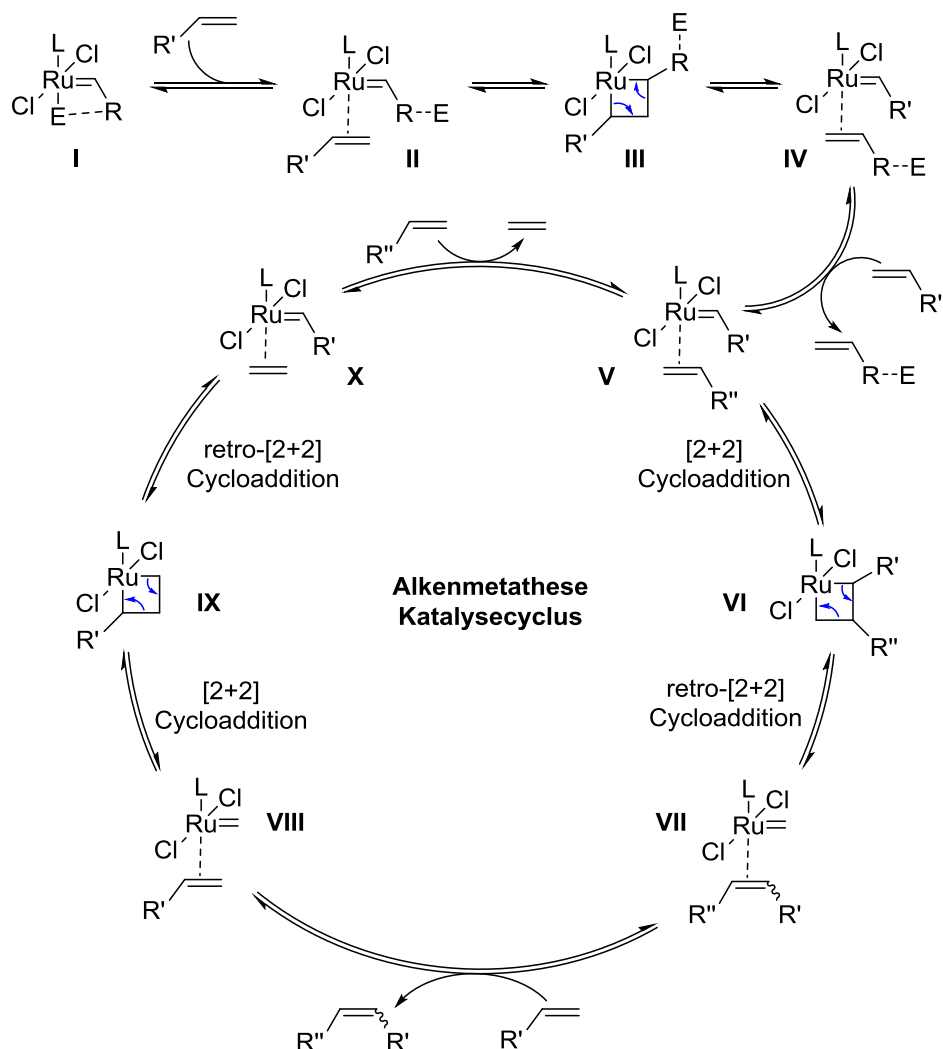
<sup>126</sup> K. Ishigai, H. Fuwa, K. Hashizume, R. Fukazawa, Y. Cho, M. Yotsu-Yamashita, M. Sasaki, *Chem. - Eur. J.* **2013**, *19*, 5276–5288.

<sup>127</sup> K. Tsubone, K. Hashizume, H. Fuwa, M. Sasaki, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 548–551.



### 3.5 Olefin-Kreuzmetathese

Nachdem die Westfragmente und das fortgeschrittene Ostfragment **167** für die Synthese von Jerangolid E (**4**) und Projerangolid (**8**) erfolgreich dargestellt werden konnten, verblieb nur noch die Kupplung der einzelnen Fragmente über eine Kreuzmetathese.

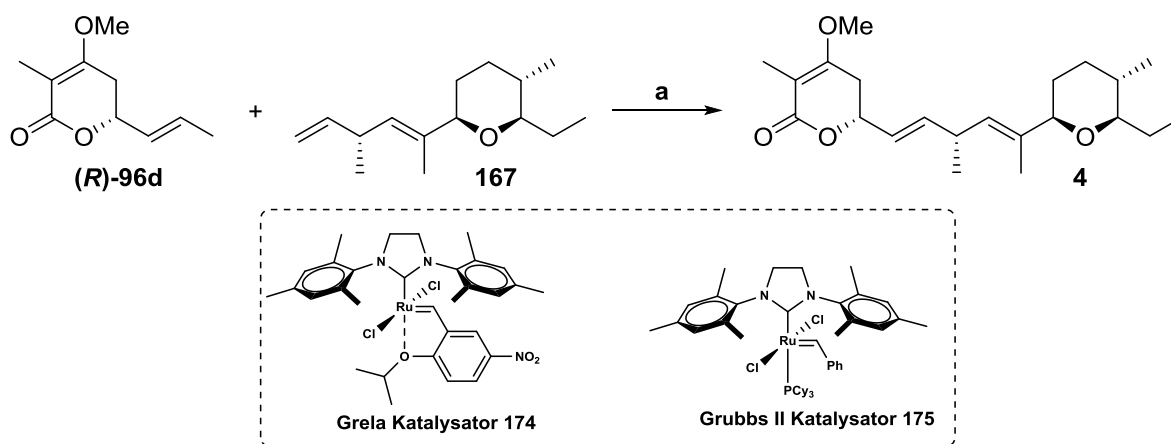


**Schema 65:** Katalysezyklus und Initiationsphase der Alkenmetathese mit einem Rutheniumkatalysator. L = Ligand, E = Elektronendonator/Lewisbase, R = organischer Rest.<sup>128</sup>

Der generelle Mechanismus der Alkenmetathese ist in Schema 65 am Beispiel eines Rutheniumkatalysators dargestellt. Bei einer Olefin-Kreuzmetathese findet eine intermolekulare Reaktion zwischen zwei unterschiedlichen Olefinen statt. In der Initiationsphase für die Metathese wird zunächst die aktive  $14e^-$ -Spezies des Katalysators gebildet. Dies geschieht typischerweise durch Verlust eines Liganden des Präkatalysators, welcher in der Regel eine  $16e^-$ -Spezies ist. Die Rate, mit der die aktive Ru-Spezies gebildet

wird, hat wesentlichen Einfluss auf den weiteren Verlauf der Reaktion.<sup>128</sup> Der eigentliche Katalysezyklus zeichnet sich durch eine Abfolge von [2+2]-Cycloadditionen und retro-[2+2]-Cycloadditionen aus, durch die das Produkt freigesetzt wird. Im Laufe der Katalyse wird Ethen freigesetzt, welches als Gas der Reaktion irreversibel entweicht und somit die Triebkraft der Katalyse darstellt.

Nach GRUBBS *et al.* können zur Vorhersage von Kreuzmetathesen die beteiligten Olefine bezüglich ihrer Reaktivität in vier Gruppen eingeteilt werden. Typ I Olefine zeigen die höchste Reaktivität und bilden schnell Homodimere, welche ebenfalls an sekundären Metathesen teilnehmen. Im Vergleich reagieren Olefine vom Typ II langsamer und die gebildeten Homodimere sind nur schlecht für weitere Metathesen zugänglich. Typ III Olefine können zwar mit Typ I und II Metathesen eingehen, bilden jedoch keine Homodimere aus. Olefine, die nicht an der Reaktion teilnehmen und nicht zur Inhibierung des Katalysators führen, gehören zu Typ IV. Im Allgemeinen nimmt die Reaktivität eines Olefins mit zunehmendem sterischen Anspruch und Elektronenmangel ab. Da die Wahl des Katalysators ebenso wesentlichen Einfluss auf die Reaktivität haben kann, variiert die Einstufung der Olefine je nach verwendetem Katalysator.<sup>129</sup>



**Schema 66:** Synthese von Jerangolid E (**4**): **a**) siehe Tabelle 9.

Das Vinylacton (**(R)-96d**) wurde als Olefin vom Typ II angesehen. Der elektronenziehende Effekt des Lactonmotivs führt zu einer Deaktivierung der Doppelbindung, welche im Homodimer noch ausgeprägter ist. Im Homodimer würde zudem aufgrund der Einfassung der Doppelbindung zwischen zwei Ringsystemen eine starke sterische Hinderung vorliegen. Das terminale Alken **167** hingegen lässt sich als Typ I Olefin einstufen und das entsprechende Homodimer sollte an sekundären Metathesen beteiligt sein. Die zweite Doppelbindung im

<sup>128</sup> D. J. Nelson, S. Manzini, C. A. Urbina-Blanco, S. P. Nolan, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 10355–10375.

<sup>129</sup> A. K. Chatterjee, T.-L. Choi, D. P. Sanders, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11360–11370.

Alken **167** sollte aufgrund des Substitutionsmusters und der Nähe zum Pyranring zu unreaktiv sein, um an der Metathese beteiligt zu sein (Typ IV). Das Lacton (**R**)-**96d** sollte als der weniger reaktive Reaktionspartner für die Kreuzmetathese im Überschuss eingesetzt werden, um einen vollständigen Umsatz von Alken **167** zu gewährleisten.

**Tabelle 9:** Bedingungen für die Kreuzmetathese zwischen Vinylacton (**R**)-**96d** und Alken **167**.

Eintrag	Katalysator	Lösungsmittel	Bedingungen	Ausbeute
1	GRUBBS II <b>175</b>	Toluol	1.2 Äq. ( <b>R</b> )- <b>96d</b> , 85 °C, 2 h	23%
2	GRELA <b>174</b>	Perfluortoluol	3.4 Äq. ( <b>R</b> )- <b>96d</b> , 88 °C, 4 h	93%

In einer mit GRUBBS II-Katalysator **175** katalysierten Reaktion konnte Jerangolid E (**4**) erhalten werden, allerdings nur in nicht zufriedenstellenden Ausbeuten. Als Hauptproblem wurde dabei identifiziert, dass das Homodimer von Alken **167** mit GRUBBS II-Katalysator **175** nicht in weiteren Metathesen umgesetzt werden konnte.

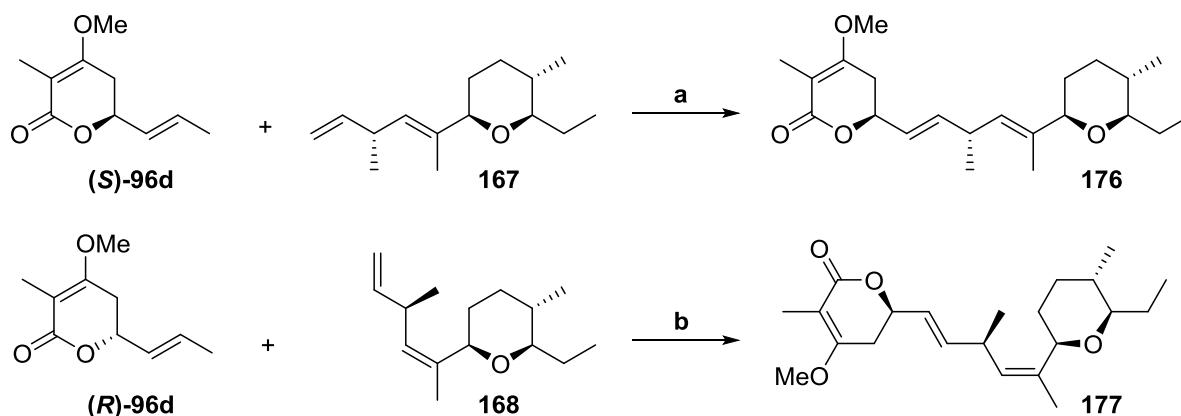
Alternativ wurde GRELA-Katalysator **174** verwendet, welcher eine höhere Aktivität als der GRUBBS II-Katalysator **175** besitzt. Die Nitrogruppe am Styrolliganden führt vermutlich zu einer Senkung der Elektronendichte am Sauerstoff des Isopropoxyfragments. Dadurch würden die chelatisierenden Eigenschaften reduziert, was die Bildung der aktiven Ruthenium-Spezies fördern und zudem wiederholte Reassoziierung an das Metallzentrum unterdrücken würde.<sup>130</sup> Des Weiteren ist bekannt, dass fluoridierte, aromatische Lösungsmittel die Aktivität von NHC-Ruthenium-Katalysatoren in Olefinmetathesen beeinflussen. Die erhöhte Aktivität des Katalysators lässt sich auf  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen zwischen den *N*-aromatischen Substituenten des NHC-Liganden und den aromatischen Systemen des Lösungsmittels zurückführen. Denkbar ist zudem eine direkte Koordinierung des Lösungsmittels an das Rutheniumzentrum, wodurch die  $14e^-$ -Spezies stabilisiert wird. Diese Wechselwirkungen sind für fluoridierte, aromatische Lösungsmittel deutlich ausgeprägter als für nicht fluoridierte Lösungsmittel.<sup>131</sup> Daher wurde anstelle von Toluol Perfluortoluol verwendet und gleichzeitig der Katalysator in zwei Portionen zugegeben, um der Zersetzung des Katalysators entgegenzuwirken. Durch die Optimierung konnte die Ausbeute der Kreuzmetathese

<sup>130</sup> K. Grela, S. Harutyunyan, A. Michrowska, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4038–4040.

<sup>131</sup> C. Samojłowicz, M. Bieniek, A. Pazio, A. Makal, K. Woźniak, A. Poater, L. Cavallo, J. Wójcik, K. Zdanowski, K. Grela, *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17*, 12981–12993.

zwischen (**R**)-**96d** und **167** wesentlich gesteigert werden, sodass die Totalsynthese von Jerangolid E (**4**) erfolgreich abgeschlossen werden konnte.

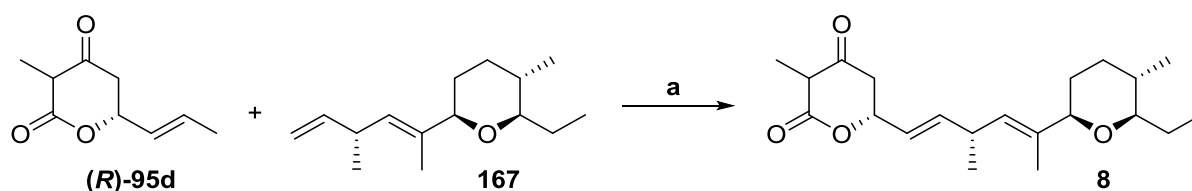
Aufgrund der exzellenten Ausbeuten in der Kreuzmetathese für die Synthese von Jerangolid E (**4**) sollte diese auch für die Synthese von Derivaten von Jerangolid E (**4**), sowie für die Synthese von Projerangolid (**8**) genutzt werden.



**Schema 67:** Synthese der Jerangolid Derivate **176** und **177**: **a**) GRELA-Katalysator **174** 25 mol%, C<sub>7</sub>F<sub>8</sub>, 88 °C, 4 h, 55%; **b**) GRELA-Katalysator **174** 12 mol%, C<sub>7</sub>F<sub>8</sub>, 70 °C, 4 h, 76%.

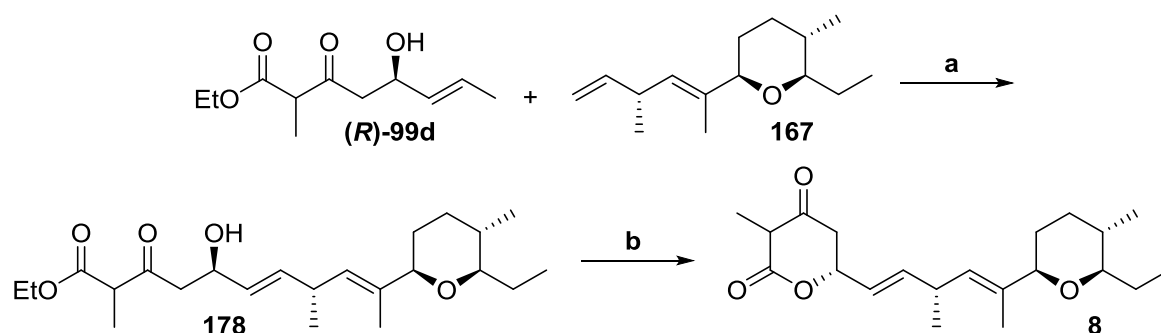
Analog zur Synthese von Jerangolid E (**4**) konnte durch die Metathese zwischen (*E*)-Alken **167** und (*S*)-Lacton (*S*)-**96d** unter vergleichbaren Bedingungen 5-*epi*-Jerangolid E (**176**) in guten Ausbeuten erhalten werden. Das ebenfalls aus der JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung erhaltene (*Z*)-Alken **168** lieferte mit (*R*)-Lacton (*R*)-**96d** 9-(*Z*)-Jerangolid E (**177**). Dies stellt die erste beschriebene Synthese von nicht-natürlichen Derivaten der Jerangolid-Familie dar. Die beiden Derivate **176** und **177** können neben der Untersuchung der Enzyme der Jerangolid-Biosynthese auch als Ausgangspunkt für weitere Struktur-/Wirkungsbeziehung-Studien (*structure/activity relationship*, SAR) genutzt werden.

Für die Synthese des postulierten biosynthetischen Vorläufers von Jerangolid E (**4**) sollte Alken **167** mit dem Pyrandion (*R*)-**95d** ebenfalls über eine Metathese gekuppelt werden.



**Schema 68:** Synthese von Projerangolid (**8**) durch Metathese mit Pyrandion (*R*)-**95d**: **a**) GRELA-Katalysator **174** 17-30 mol%, C<sub>7</sub>F<sub>8</sub>, 75-88 °C, 3 h, 16-40%.

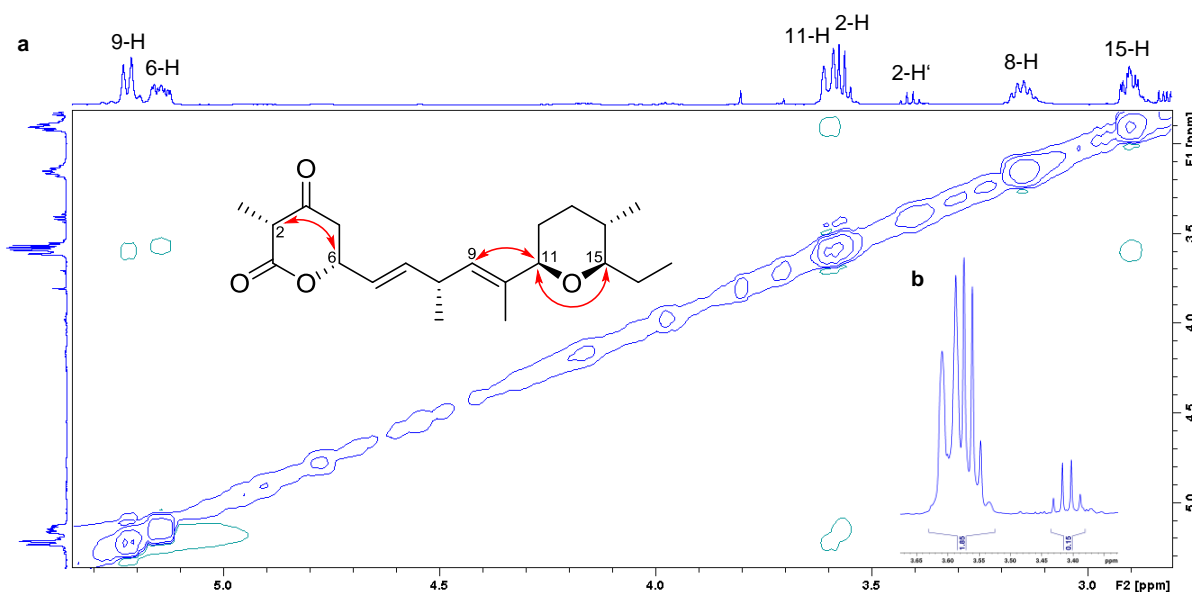
Unter den etablierten Bedingungen für die Kreuzmetathese konnte Projerangolid (**8**) jedoch nur mit geringer Reproduzierbarkeit und in niedrigen Ausbeuten gewonnen werden. Wesentliche Hindernisse für die Reaktion stellten die geringe Löslichkeit des Lactons (**R**)-**95d** in Perfluortoluol, sowie die Thermolabilität von (**R**)-**95d** als auch dem Produkt **8** dar. Eine Reinigung des Produkts war zudem durch die amphipathische Natur von Projerangolid (**8**) und Sensitivität des Pyrandion-Strukturmotivs erschwert.



**Schema 69:** Synthese von Projerangolid (**8**) über den linearen Vorläufer **178**: **a**) GRELA-Katalysator **174** 13 mol%,  $C_7F_8$ , 62 °C, 4 h, 86%; **b**)  $K_2CO_3$ , MeOH, RT, 20 min, 79%.

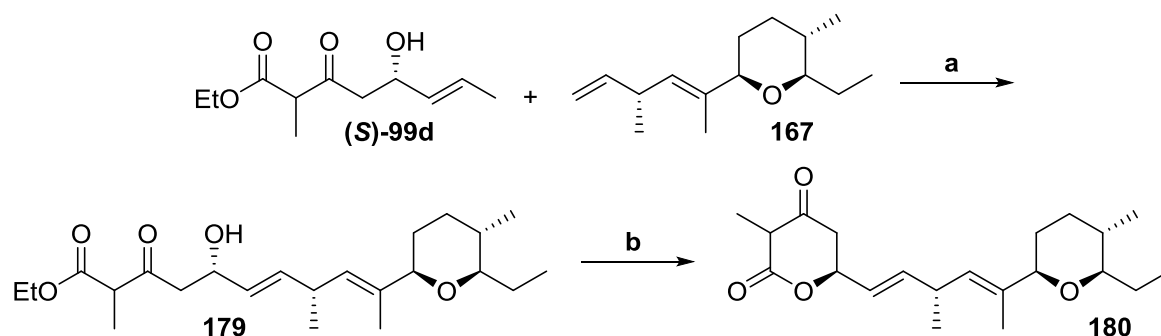
Um diese Probleme zu umgehen wurde die Synthese von Projerangolid (**8**) bezüglich der Reihenfolge der finalen Schritte umgestellt, sodass zunächst der lineare Vorläufer **178** durch Metathese mit Alken **167** und dem  $\beta$ -Ketoester (**R**)-**99d** dargestellt wurde. Der Ester **178** hatte neben einer höheren Stabilität gegenüber dem Pyrandion (**R**)-**95d** den Vorteil, dass das entsprechende Homodimer potentiell besser für eine sekundäre Metathese geeignet ist, als das des Pyrandions (**R**)-**95d**, da eine geringere sterische Hinderung, sowie eine weniger starke Deaktivierung des Olefins durch elektronenziehende Gruppen vorliegt. Dies äußerte sich unter anderem auch darin, dass die Metathese bei einer niedrigeren Temperatur durchgeführt werden konnte, was sich ebenso positiv auf die Stabilität der Verbindung auswirkte.

Unter milden Cyclisierungsbedingungen konnte der lineare Vorläufer **178** anschließend erfolgreich zu Projerangolid (**8**) cyclisiert werden. Bei der Isolierung von Projerangolid (**8**) war vor allem eine rasche Durchführung der Umkehrphase-Säulenchromatographie wesentlich.



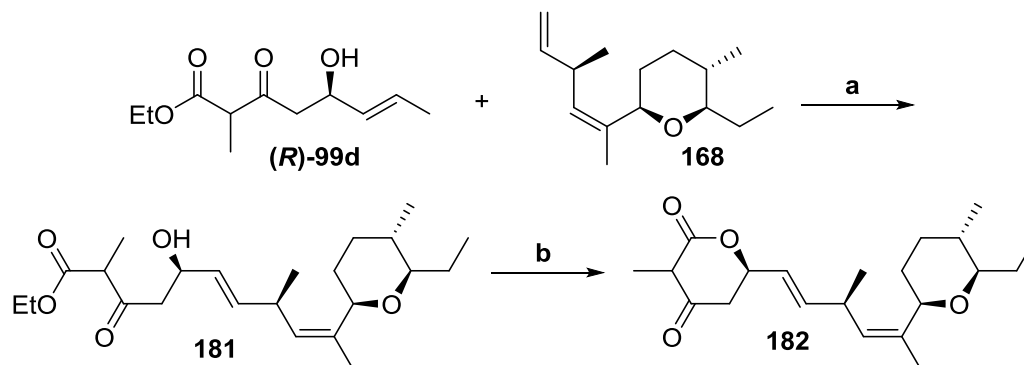
**Abbildung 8:** a) Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum (500 MHz) von Projerangolid (8); b) Detailansicht der Region zwischen 3.30-3.65 ppm zeigt das Signal vom Hauptdiastereomer (3.57 ppm) und Nebendiastereomer (3.41 ppm).

$^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie zeigte, dass Projerangolid (8) als Gemisch von C-2-Epimeren mit einem Verhältnis von 6:1 erhalten wurde (Abbildung 8, b). Es ist bekannt, dass es bei der Methylpyrandion-Einheit leicht zu Tautomerisierung an der C-2 Position kommen kann. Die NOE-Signale zwischen 2-H und 6-H zeigen, dass die beiden Protonen des Hauptdiastereomers sich auf derselben Seite der Ringebene befinden. Dies deutet darauf hin, dass analog zu verwandten Methylpyrandionen bevorzugt eine *syn*-Stellung der Substituenten eingenommen wird und die Methylverzweigung sich in einer *pseudo*-äquatorialen Position befindet.<sup>17</sup> Im NOESY-Spektrum lässt sich des Weiteren die *syn*-Konfiguration des Pyranrings über das NOE-Signal zwischen 11-H und 15-H erkennen. Zudem ist ein NOE-Signal zwischen 9-H und 11-H zu sehen. Dies steht im Einklang mit der bereits bei Jerangolid A und D beobachteten rigiden Vorzugskonformation des DHP-Rings.



**Schema 70:** Synthese von 5-*epi*-Projerangolid (180) über den linearen Vorläufer 179: a) GRELA-Katalysator **174** 15 mol%, C<sub>7</sub>F<sub>8</sub>, 70 °C, 4 h, 75%; b) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH, RT, 30 min, 75%.

Durch Verwendung von  $\delta$ -Hydroxy- $\beta$ -ketoester (**(S)**-**99d**) konnte analog zu Projerangolid (**8**) auch 5-*epi*-Projerangolid (**180**) dargestellt werden. Hierbei konnte das Produkt durch leicht saure Aufarbeitung und Extraktion in sehr guter Reinheit erhalten werden, sodass es ohne weitere Reinigung direkt für die enzymatischen Arbeiten verwendet werden konnte.



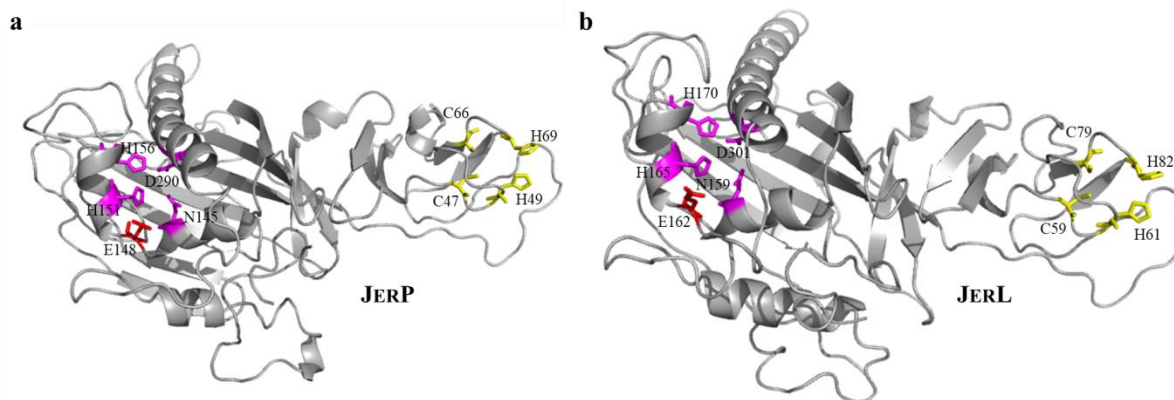
**Schema 71:** Synthese von 9-(Z)-Projerangolid (**182**) über den linearen Vorläufer **181**:  
**a**) GRELA-Katalysator **174** 12 mol%,  $\text{C}_7\text{F}_8$ , 65 °C, 3 h, 68%; **b**)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeOH, 0 °C, 1 h, 85%.

Des Weiteren konnte die Synthese von 9-(Z)-Projerangolid (**182**) von F. GUTH im Rahmen seiner Masterarbeit unter Verwendung derselben Strategie wie für die anderen Projerangolide erfolgreich durchgeführt werden.<sup>132</sup> Eine Kreuzmetathese mit (Z)-Alken **168** und  $\beta$ -Ketoester (**(R)**-**99d**) lieferte den linearen Vorläufer **181**, welcher zu 9-(Z)-Projerangolid (**182**) cyclisiert werden konnte. Hierbei war auffällig, das 9-(Z)-Projerangolid (**182**) im Vergleich zu Projerangolid (**8**) ein noch stärkeres thermolabiles Verhalten zeigte. Ebenso wie 5-*epi*-Projerangolid (**180**) wurde 9-(Z)-Projerangolid (**182**) nach Extraktion in ausreichender Reinheit erhalten, sodass es ohne weitere Reinigung für die enzymatischen Arbeiten verwendet wurde.

<sup>132</sup> F. Guth, *Masterarbeit: Totalsynthese verschiedener Jerangolid-Derivate zur Aufklärung von dessen Biosynthese mittels Enzymexperimenten*, Universität Bayreuth, 2019.

### 3.7 *In silico* Studien zu den RIESKE-Oxygenasen

Zum besseren Verständnis der RIESKE-Oxygenasen JerP und JerL, sowie der Monooxygenase JerO, wurden von A. PEIL *in silico* Studien zu der 3D-Struktur der Enzyme durchgeführt.<sup>133</sup>



**Abbildung 9:** Modellierter dreidimensionaler Struktur: **a)** JerP; **b)** JerL. gelb = Koordinationsstellen des RIESKE-[2Fe-2S]-Clusters, magenta = Liganden des mononuklearen  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Zentrums, rot = verbrückendes Glutamat. Beide Proteine bestehen ausschließlich aus einer  $\alpha$ -Untereinheit.<sup>133</sup>

Ein Sequenzvergleich mit anderen RIESKE-Oxygenasen legte nahe, dass die Koordination des [2Fe-2S]-Clusters durch die Aminosäuren Cys47, His49, Cys66 und His69 bei JerP und Cys59, His61, Cys79 und His82 bei JerL erfolgt. Das katalytische Eisen-(II)-Zentrum wird bei JerP vermutlich durch die Aminosäuren His151, His156 und Asp290 und respektiv durch His165, His170 und Asp301 bei JerL in dem für RIESKE-Enzyme bekannten „2-His-1-Carboxylat“-Motiv koordiniert.<sup>134,135</sup> Für die Verbindung des [2Fe-2S]-Clusters mit dem Eisen-(II)-Zentrum ist mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Glutamatrest verantwortlich (Glu148 bzw. Glu162). Zusätzlich findet am mononuklearen Eisenzentrum die Koordination eines Wasserliganden statt. Dieser wird in der Regel über einen Asparaginrest stabilisiert. Bei JerP und JerL kann aufgrund der räumlichen Anordnung davon ausgegangen werden, dass diese Funktion von Asp145 bzw. Asp159 übernommen wird. Unter Berücksichtigung der Entfernung der beiden Redoxzentren innerhalb einer Untereinheit kann davon ausgegangen werden, dass es zur Ausbildung von Tertiärstrukturen für die katalytische Form kommt, wie sie analog auch für andere RIESKE-Oxygenasen festgestellt wurde.<sup>136</sup>

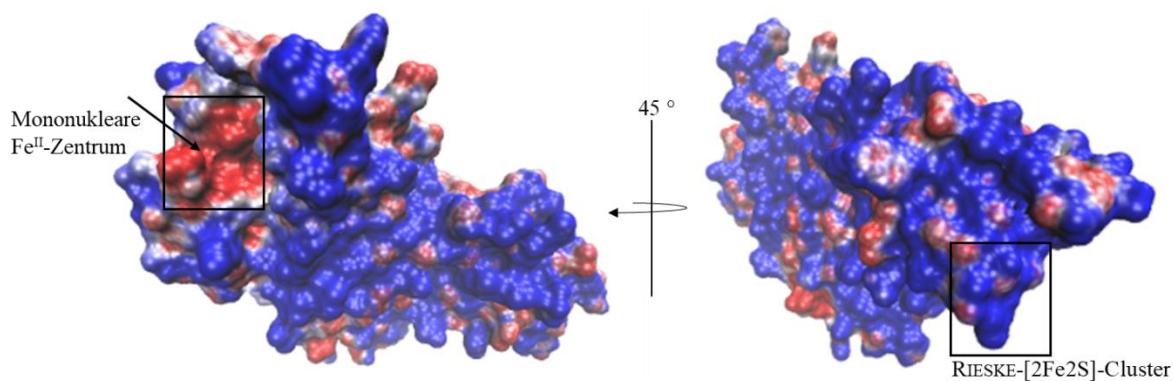
<sup>133</sup> A. Peil, *Masterarbeit: In vitro Studien der RIESKE-[2Fe2S]-Cluster Enzyme JerP und JerL der Jerangolid-Biosynthese*, Universität Bayreuth, **2017**.

<sup>134</sup> K. D. Koehntop, J. P. Emerson, L. Que, *J. Biol. Inorg. Chem. JBIC Publ. Soc. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, *10*, 87–93.

<sup>135</sup> E. L. Hegg, L. Que, *Eur. J. Biochem.* **1997**, *250*, 625–629.

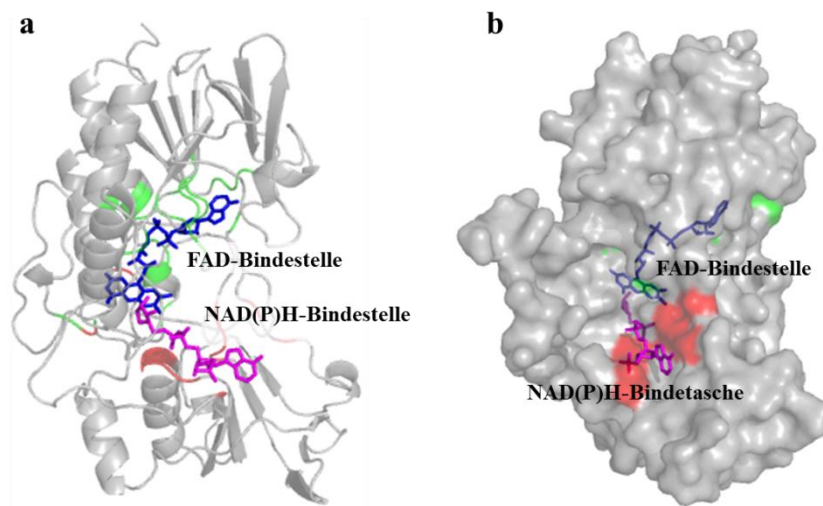
<sup>136</sup> B. Kauppi, K. Lee, E. Carredano, R. E. Parales, D. T. Gibson, H. Eklund, S. Ramaswamy, *Struct. Lond. Engl.* **1993** **1998**, *6*, 571–586.





**Abbildung 10:** APBS-Berechnung der Poisson-Boltzmann-Oberfläche von JerP: rot = negativ geladene Oberflächen, blau = positiv geladene Oberflächen.<sup>133</sup>

Durch Simulation der elektrostatischen Oberfläche über eine *Adaptive Poisson-Boltzmann Solver* (APBS)-Berechnung konnten mögliche Interaktionsflächen bestimmt werden. In direkter Nähe zum mononuklearen Eisen-(II)-Zentrum ist eine ausgeprägte, negativ geladene Umgebung vorhanden. Bei Drehung der 3D-Struktur um 45° entlang der vertikalen Achse lässt sich die leicht aus der Oberfläche herausstehende positiv geladene Schleife des RIESKE-[2Fe-2S]-Cluster erkennen. Die Interaktionen der  $\alpha$ -Untereinheiten bei JerP und JerL finden vermutlich zwischen entgegengesetzt geladenen Oberflächen in Nähe der Redoxzentren statt.

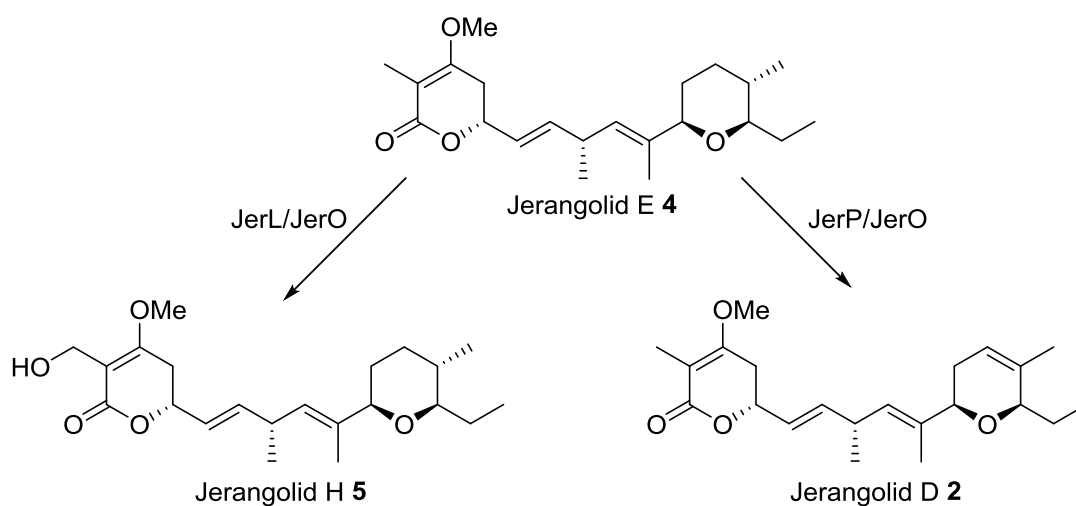


**Abbildung 11:** Modellierter dreidimensionaler Struktur von JerO und Vorhersage der Bindungsstellen von prosthetischen Gruppen: **a)** Cartoon-Darstellung der FAD- und NADPH-Bindestelle; **b)** Oberflächenstruktur mit Interaktionsfläche von NADPH; rot dargestellte Aminosäuren bilden die vorhergesagte Bindungskavität für NAD(P)/H, blau = FAD, magenta = NAD(P)H.<sup>133</sup>

Studien zufolge liegt FAD nur bei 5-10% der Flavoproteine kovalent gebunden vor.<sup>137</sup> Über die *in silico*-Studien konnte FAD im Inneren von JerO lokalisiert werden, allerdings konnte keine Aussage über die Art der Bindung getroffen werden. In unmittelbarer Nähe wurde eine Bindungstasche für NAD(P)H gefunden. Dies deutet daraufhin, dass die Reduktionsäquivalente ähnlich wie bei bereits charakterisierten RIESKE-Oxygenasen übertragen werden. NAD(P)H wird hierbei in der Bindungsstelle oxidiert und die Elektronen auf das in der Nähe vorliegende FAD übertragen. Anschließend erfolgt der Elektronentransfer von FAD auf den RIESKE-Cluster vermutlich direkt, analog zur von LEE *et al.* untersuchten RIESKE-Aminopyrrolnitrin-Oxygenase PrnD.<sup>43</sup> Die *in silico*-Studien zu JerO zeigten eine enge Verwandtschaft zu Flavin-abhängigen Monooxygenase aus *Pseudomonas stutzeri* und der Thioredoxin-Disulfid Reduktase aus *Campylobacter jejuni*. Letztere gehört zur Glutathionreduktase-Familie, wie sie auch bei RIESKE-Oxygenasen vom Typ IV und V vorkommen.<sup>27</sup> Diese besitzen in der Regel ein zusätzliches Ferredoxin, welches am Elektronentransport beteiligt ist. Da im Jerangolidcluster jedoch kein Ferredoxin identifiziert werden konnte und auch JerO keinen zusätzlichen [FeS]-Cluster besitzt, ist keine eindeutige Klassifizierung möglich.

### 3.8 *In vivo* Studien zu den RIESKE-Oxygenasen

In Enzymreaktionen mit Jerangolid E (**4**) sollte die Aktivität der beiden RIESKE-Oxygenasen JerP und JerL im Zusammenspiel mit der Monooxygenase JerO untersucht werden.



**Schema 72:** Mögliche Produkte der Enzymreaktion von JerP/JerO und JerL/JerO mit Jerangolid E (**4**).

Im Rahmen seiner Masterarbeit wurde von A. PEIL eine Optimierung der Bedingungen für die rekombinante Expression der RIESKE-Oxygenasen JerP und JerL, sowie der Monooxygenase

<sup>137</sup> H. J. Kim, D. R. Winge, *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, 1827, 627–636.

JerO durchgeführt. Hierzu wurden die synthetischen Gene *jerP*, *jerL* und *jerO* in die Expressionsvektoren pET28a(+), pCOLD-I, pGEX-6P-I, pET32a(+) und pETMBP-1a kloniert. Nach einer Evaluierung unterschiedlicher *E. coli* (DE3) Expressionsstämme (BL21™, Tuner™, Origami B™, One Shot™, Star™ und SoluBL21™) unter Variation der Expressionsparameter konnte gezeigt werden, dass alle drei Enzyme als MBP-Fusionsprotein durch rekombinante Expression in *E. coli* Tuner(DE3) als lösliche Proteine erhalten werden können. Die für *in vitro* Studien notwendige Abspaltung des MBP-Tags konnte allerdings nicht ohne vollständige Proteinaggregation durchgeführt werden.<sup>133</sup>

Als Alternative wurde stattdessen *in vivo* Studien mit Expressionsstämmen für JerP durchgeführt. Wie bereits in Kapitel 1.2.2 beschrieben kann durch die Verwendung von Ganzzell-Systemen die Notwendigkeit des Redoxpartners, sowie die Cofaktorabhängigkeit häufig umgangen werden.<sup>47,48</sup> Hierzu wurde Jerangolid E (4) mit ganzen Zellen eines JerP überexprimierenden *E. coli* Stammes und Glucose für die *in situ* NAD(P)H Regeneration inkubiert. Die Biotransformation von Jerangolid E (4) wurde ebenfalls mit dem Voll-Lysat und zellfreiem Lysat untersucht.

**Tabelle 10:** Getestete Stamm/Plasmid-Kombinationen für Ganzzell-Systeme, Lysat und zellfreies Lysat für die Biotransformation von Jerangolid E (4) mit JerP. Bedingungen: 0.25 mM Jerangolid E (4), 100 mM K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 20 mM Glucose, pH 7.0, 0.1% Ampicillin, 0.2 g/ml Zellen, 30 °C (37 °C für pET28a), 24 h; Lysat wurde durch Aufschluss mit Ultraschall erhalten. x = getestetes System.

Eintrag	<i>E. coli</i> Stamm	Plasmid	Ganzzell- System	Voll- Lysat	zellfreies Lysat
1	Tuner	pET32a(+)	x	x	x
2		pCOLD-I	x	x	x
3		pET28a(+)	x	x	
2	One Shot TOP10	pET32a(+)	x	x	x
4		pCOLD-I	x	x	x
5		pET28a(+)	x	x	

6	Origami	pCOLD-I	x	x	
7		pET28a(+)	x	x	
8	One Shot	pCOLD-I	x	x	x
9	Star	pET28a(+)	x	x	
10	BL21	pCOLD-I	x	x	x
11		pET28a(+)	x	x	
12	SoluBL21	pET28a(+)	x	x	

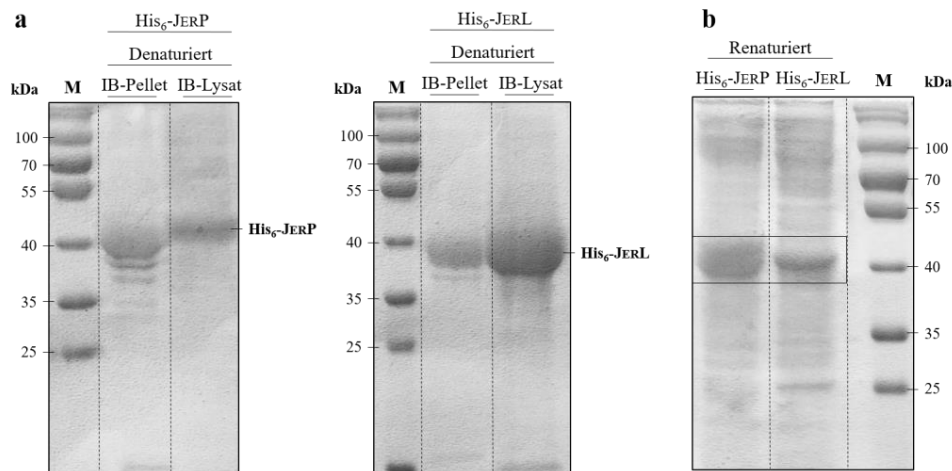
In allen Fällen (siehe Tabelle 10 für getestete Stamm/Plasmid-Kombinationen) konnte über UPLC-MS keine Bildung von Jerangolid D (**2**) nachgewiesen werden. Da für JerP keinerlei Aktivität mit Ganzzell-Systemen festgestellt werden konnte, wurde für JerL nur die Expression von *E. coli* Tuner pCOLD-I<sub>jerL</sub> als Ganzzellsystem getestet, wobei ebenfalls keinerlei Aktivität zu beobachten war. Dies deutete daraufhin, dass JerO als Redoxpartner maßgeblich an der enzymatischen Aktivität von JerP und JerL beteiligt ist. Eine Kombination von Lysat mit His<sub>6</sub>-JerP und Lysat mit GST-JerO zeigte jedoch keinen Effekt. Während der heterologen Expression kann es zu Aktivitätsverlusten durch Beeinflussung der nativen Faltung kommen, zudem ist ein korrekter Aufbau des [FeS]-Cluster nicht gewährleistet. Eine chemische Rekonstitution des Clusters an denaturiertem Protein mit anschließender Rückfaltung sollte daher für die Bildung der aktiven RIESKE-Enzyme verwendet werden.

### 3.9 *In vitro* Studien zu den RIESKE-Oxygenasen

#### 3.9.1 Rekonstitution und Rückfaltung

In Zusammenarbeit mit A. PEIL wurde die denaturierende Proteingewinnung aus *inclusion bodies* (IB, Proteinaggregate innerhalb der Zelle) mit chemischer Rekonstitution des [FeS]-Clusters und abschließender Rückfaltung untersucht. Ein wesentlicher Vorteil von *inclusion bodies* ist, dass diese hauptsächlich aus überexprimierten Proteinen bestehen und somit das gewünschte Protein bereits in hohen Konzentrationen vorliegt. Für die Präparation der IBs wurden pCOLD-I<sub>jerP</sub> und pCOLD-I<sub>jerL</sub> in *E. coli* Tuner(DE3) exprimiert und die

IBs durch mehrere Lyse- und Waschschr tte isoliert. Die Denaturierung wurde anschließend durch Zugabe von Harnstoff durchgeführt.



**Abbildung 12:** SDS-PAGE der isolierten IBs von His<sub>6</sub>-JerP und His<sub>6</sub>-JerL: **a)** IBs nach Denaturierung; **b)** Rekonstituierte und renaturierte Proteinlösung von His<sub>6</sub>-JerP und His<sub>6</sub>-JerL. IB-Pellet = nach Denaturierung unlöslicher Proteinanteil, IB-Lysat = nach Denaturierung löslicher Proteinanteil, His<sub>6</sub>-JerP = 42.0 kDa, His<sub>6</sub>-JerL = 42.2 kDa.<sup>133</sup>

Die His<sub>6</sub>-Fusionsproteine ließen sich selbst mit hohen Harnstoffkonzentrationen nur schwer solubilisieren. Selbst bei Inkubation für 24 h mit 8 M Harnstoff konnte keine vollständige Solubilisierung erreicht werden. Die Bildung des [2Fe-2S]-Cluster wurde durch Zugabe von DTT, Na<sub>2</sub>S und Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> erreicht. Hierbei wurden die Konzentrationen an Na<sub>2</sub>S und Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> für eine optimale Bildung des [2Fe-2S]-Clusters variiert. Bei zu hohen Konzentrationen war die Bildung von Eisensulfid zu beobachten, wohingegen bei einer zu niedrigen Konzentration die Bildung des [2Fe-2S]-Clusters nur in geringem Maße ablaufen könnte. Der vollständige Einbau des Clusters findet während der Renaturierung statt, wobei DTT die Cysteinyliganden reduziert und eine Koordination der Eisenatome ermöglicht. Charakteristisch für die [FeS]-Proteinen mit aktivem [FeS]-Cluster und Indiz für die erfolgreiche Rekonstitution war eine tief rot-braune Färbung der Proteinlösung. Die Entfernung des Denaturierungsreagenzes zur Renaturierung der Proteine erfolgte über Dialyse. Die Rückfaltung zur nativen, aktiven Faltung des Proteins kann als Konkurrenzreaktion zwischen der Faltungsreaktion und Aggregatbildung angesehen werden. Eine niedrige Proteinkonzentration begünstigt die Faltungsreaktion gegenüber der Proteinaggregation, zudem kann die Faltung durch physikochemische Parameter beeinflusst werden. Für die Dialyse wurden daher unterschiedliche Kombinationen von Rekonstitutionspuffern, Dialysepuffern und Proteinkonzentrationen getestet.<sup>133</sup>

Die optimalen Bedingungen für die Rekonstitution und Renaturierung von His<sub>6</sub>-JerP mit nur geringer Proteinaggregation sind in Tabelle 11 dargestellt.

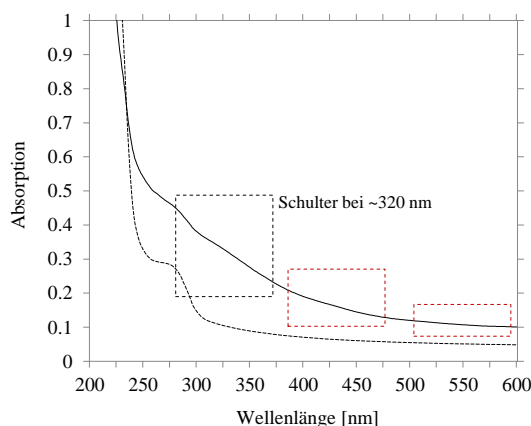
**Tabelle 11:** Optimale Parameter für die Rekonstitution und Renaturierung von His<sub>6</sub>-JerP.

Protein	Proteinkonz. <sup>a</sup>	Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>		Rekonstitutions-/ Dialysepuffer <sup>b</sup>
	[mg/mL]	Na <sub>2</sub> S [mM]	[mM]	
His <sub>6</sub> -JerP	0.075-0.150	0.38	0.22	50 mM Tris/HCl, pH 8.5

<sup>a</sup> Gesamtproteinkonzentration; <sup>b</sup> Im Rekonstitutionspuffer zusätzlich 2 mM DTT.

Die Rekonstitution und anschließende Renaturierung von His<sub>6</sub>-JerP wurde ebenfalls mit per Affinitätschromatographie gereinigten Fusionsproteinen untersucht. Selbst bei sehr niedrigen Proteinkonzentrationen (0.025 mg/mL) wurde eine vollständige Proteinaggregation beobachtet. Eine mögliche Ursache ist die vermehrte Ausbildung von Faltungsintermediaten für gereinigte His<sub>6</sub>-Fusionsproteine, die zu einer verstärkten Proteinaggregation führen. Bei Verwendung eines GST-Tags konnten die entsprechenden Fusionsproteine zwar erfolgreich renaturiert werden, allerdings konnte keine erfolgreiche Rekonstitution durchgeführt werden. Ebenso war die für die Bildung des aktiven Komplexes der RIESKE-Oxygenasen notwendige Abspaltung des GST-Tags nicht erfolgreich. Das Rekonstitution- und Renaturierungsprotokoll wurde daher nur mit der denaturierten Proteinlösung der His<sub>6</sub>-Fusionsproteine durchgeführt.

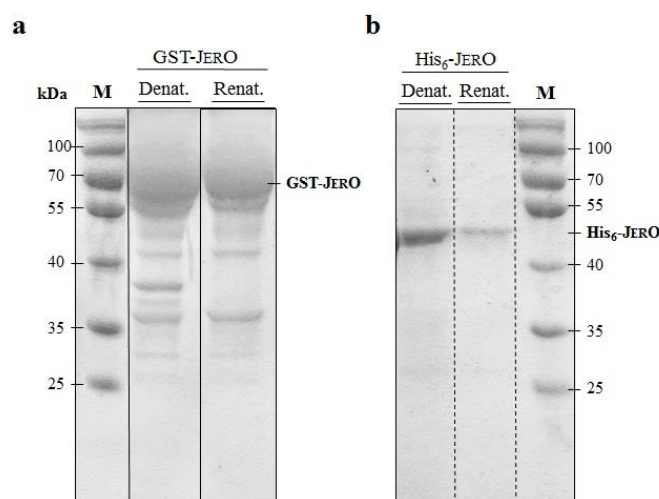
Für die Renaturierung von His<sub>6</sub>-JerL war unter allen getesteten Bedingungen im Vergleich zu His<sub>6</sub>-JerP eine starke Proteinaggregation zu beobachten, zudem deutete eine Graufärbung der Proteinlösung auf den fehlerhaften Einbau des [2Fe-2S]-Clusters hin. Die weiteren *in vitro* Untersuchungen wurden daher nur mit His<sub>6</sub>-JerP durchgeführt.



**Abbildung 13:** UV/Vis-Absorptionsspektrum von rekonstituiertem und renaturiertem His<sub>6</sub>-JerP. Durchgezogene Linie = His<sub>6</sub>-JerP (1 mg/mL), gestrichelte Linie = GST-JerO (0.6 mg/mL, Referenzprotein).<sup>133</sup>

Neben der typischen Färbung ist ein charakteristisches UV/Vis-Absorptionsspektrum mit Absorptionsmaxima bei ~340 nm, ~450 nm und ~570 nm ein Indiz für die erfolgreiche Rekonstitution. Im Absorptionsspektrum ist eine Schulter bei ~320 nm zu erkennen, was auf einen aktiven [2Fe-2S]-Cluster hindeutet. Die Maxima bei ~450 nm und ~570 nm sind nicht zu beobachten, dies kann ebenso wie die niedrige Intensität der Schulter bei ~320 nm daran liegen, dass nur geringe Mengen an aktivem Enzym gewonnen werden konnten.

Die Monooxygenase JerO wurde analog zum Renaturierungsprotokoll für die RIESKE-Enzyme aus IBs isoliert und renaturiert. Für die Präparation der IBs wurde pGEX-6P-I *jerO* in *E. coli* Tuner(DE3) exprimiert und die IBs durch mehrere Lyse- und Waschschrte isoliert. Die Denaturierung wurde anschließend durch Zugabe von 8 M Harnstoff mit 2 mM DTT durchgeführt. Für die anschließende Renaturierung über Dialyse wurden ebenfalls unterschiedliche Proteinkonzentrationen und Puffersysteme getestet. Ebenso wurde der Einfluss der prosthetischen Gruppe FAD auf die native Faltung untersucht. Hierbei konnte jedoch kein positiver Einfluss festgestellt werden.<sup>133</sup> Bei steigender Proteinkonzentration war eine vermehrte Proteinaggregation zu beobachten, welche jedoch durch eine graduelle Dialyse über zwei Tage gemindert werden konnte. Hierzu wurde die Konzentration an Harnstoff im Dialysepuffer (50 mM Tris/HCl, pH 8.5) beginnend bei 8 M durch Verdünnung auf 1 M über einen Zeitraum 26 h gesenkt und anschließend eine Dialyse in Dialysepuffer ohne Harnstoff für 6 h durchgeführt.



**Abbildung 14:** a) SDS-PAGE der isolierten IBs von GST-JerO nach Denaturierung und renaturierte Proteinlösung von GST-JerO; b) SDS-PAGE der isolierten IBs von His<sub>6</sub>-JerO nach Denaturierung und renaturierte Proteinlösung von His<sub>6</sub>-JerO. GST-JerO = 69.6 kDa, His<sub>6</sub>-JerO = 43.6 kDa.<sup>133</sup>

Die Renaturierung wurde ebenfalls mit His<sub>6</sub>-Fusionsproteinen untersucht. Diese ließen sich zwar nahezu vollständig während der Denaturierung solubilisieren, allerdings war bei der Renaturierung eine sehr starke Präzipitation der Proteine zu beobachten, weswegen GST-JerO für die *in vitro* Untersuchungen verwendet wurde. Eine weitere Reinigung der GST-Fusionsproteine über eine Glutathionmatrix war nicht möglich, da keinerlei Bindung an das Säulenmaterial stattfand. Möglicherweise kommt es während der Renaturierung zur Fehlfaltung des GST-Tags, wodurch eine Glutathionbindung nicht mehr möglich ist.

Die optimalen Bedingungen für die Renaturierung von GST-JerO mit nur geringer Proteinaggregation sind in Tabelle 12 dargestellt.

**Tabelle 12:** Optimale Parameter für die Renaturierung von GST-JerO.

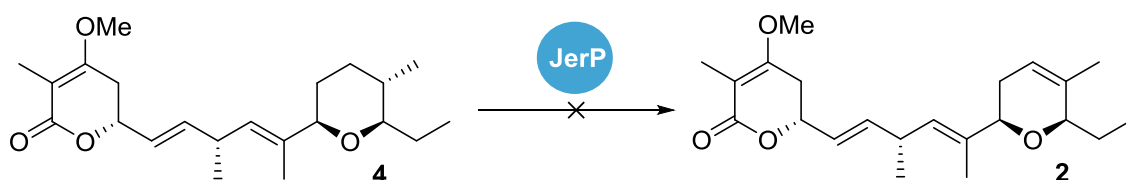
Protein	Proteinkonz. <sup>a</sup> [mg/mL]	Dialysepuffer
GST-JerO	0.4-0.8	50 mM Tris/HCl, pH 8.5

<sup>a</sup> Gesamtproteinkonzentration.

### 3.9.2 Biotransformation von Jerangolid E

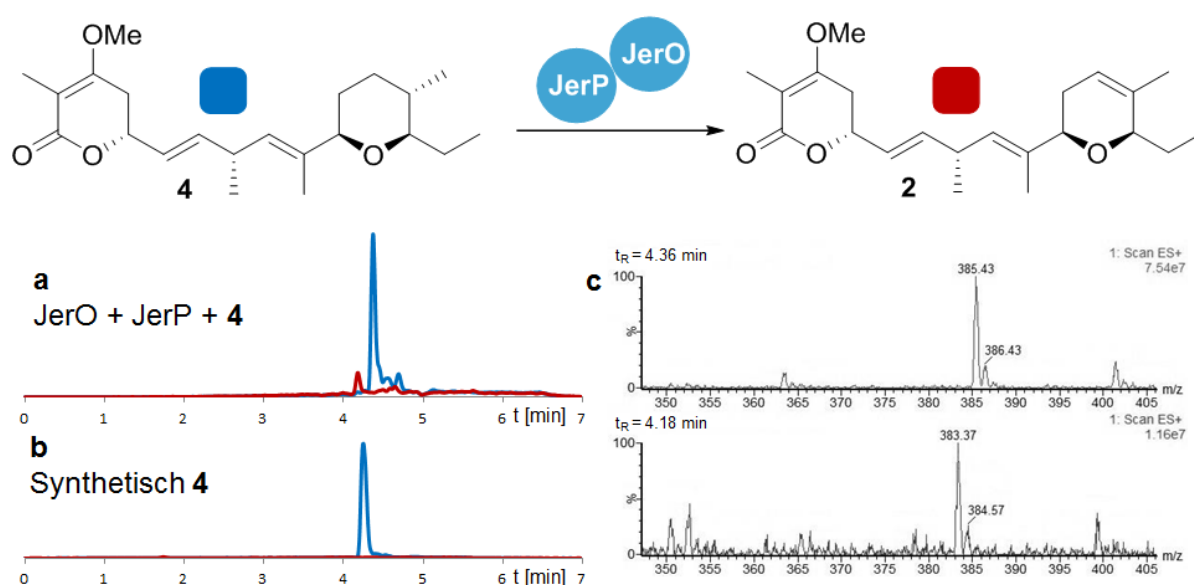
Für die *in vitro* Untersuchung der Enzymaktivität von JerP wurde zunächst ein vereinfachtes System ohne den Redoxpartner JerO verwendet. Analog zu NARAYAN *et al.* wurde hierfür Wasserstoffperoxid als Oxidationsmittel verwendet, um den Elektronentransport vom RIESKE-[2Fe-2S]-Cluster zum aktiven Eisenzentrum zu umgehen.<sup>46</sup>





**Schema 73:** Biotransformation von Jerangolid E (**4**) mit JerP und  $\text{H}_2\text{O}_2$  als Oxidant: Reaktionspuffer (50 mM Tris/HCl, pH 8.5) mit 52  $\mu\text{M}$  His<sub>6</sub>-JerP, 0.25 mM Jerangolid E (**4**), 0.4 mM  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ , 0.2 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 30 °C, 7 h.

Für die Biotransformation von Jerangolid E (**4**) mit JerP ohne den Redoxpartner JerO wurden unterschiedliche Proteinkonzentrationen (20-52  $\mu\text{M}$ ), sowie verschiedene Konzentrationen von Wasserstoffperoxid (0.05-0.2 mM) getestet, wobei JerP als frisch rekonstituiertes und renaturiertes His<sub>6</sub>-Fusionsprotein verwendet wurde. In allen untersuchten Fällen konnte die Bildung des Dihydropyranrings nicht nachgewiesen werden. Dies deutete daraufhin, dass die Monooxygenase JerO eine notwendige Rolle als Redoxpartner für die Aktivität der RIESKE-Oxygenase JerP besitzt.



**Abbildung 15:** Enzymatische Umsetzung von Jerangolid E (**4**) mit His<sub>6</sub>-JerP und GST-JerO: **a**) Reaktionspuffer (50 mM Tris/HCl, pH 8.5) mit 66.5  $\mu\text{M}$  GST-JerO, 30.5  $\mu\text{M}$  His<sub>6</sub>-JerP, 0.25 mM Jerangolid E (**4**), 0.5 mM FAD, 2.5 mM NADPH, 25 °C, 16 h. UPLC-MS-Chromatogramm für  $m/z$  385 (blau, **4**) und  $m/z$  383 (rot, **2**); **b**) Synthetisches Jerangolid E (**4**); **c**) MS-Chromatogramm für Peak mit  $t_R = 4.36$  min und  $t_R = 4.18$  min.

Wurde Jerangolid E (**4**) mit rekonstituiertem, sowie erfolgreich zurückgefalteten His<sub>6</sub>-JerP in der Gegenwart von erfolgreich rückgefaltetem GST-JerO umgesetzt, so wurde in der UPLC-MS Analyse der enzymatischen Umsetzung ein Peak bei einer Retentionszeit von

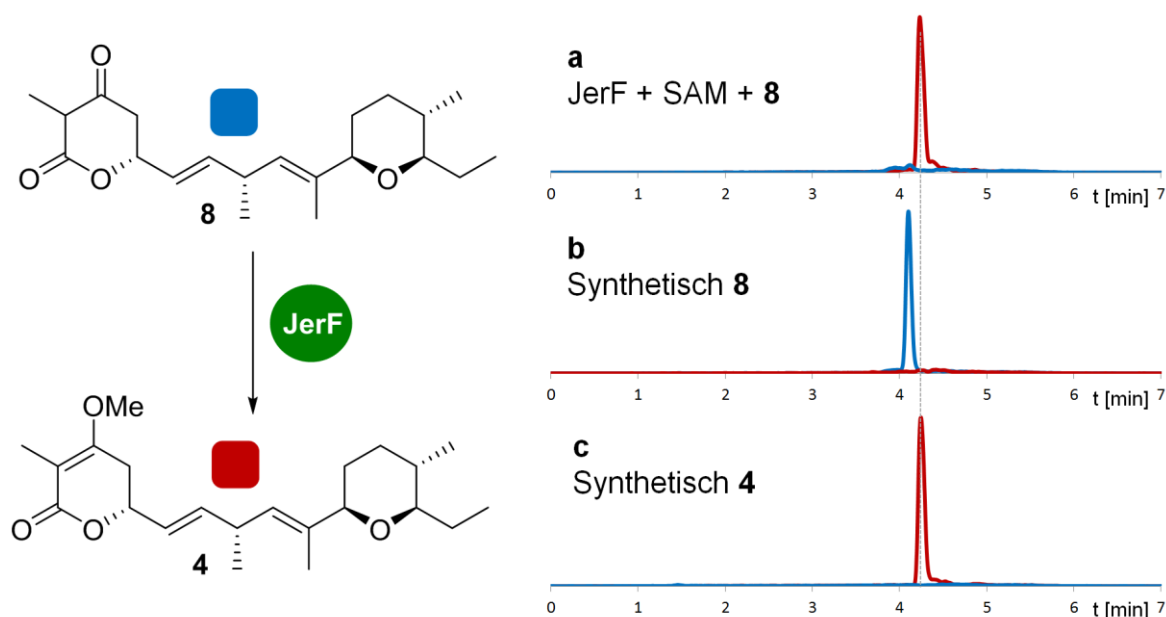
4.18 min (Jerangolid E  $t_R = 4.36$  min) mit  $m/z$  383 erhalten. Dies entspricht der Masse des Produkts **2** mit DHP-Ring. Die Masse eines Desaturierungsproduktes konnte zudem über HRMS-Analytik bestätigt werden (siehe Abbildung 29, Kapitel 5.1.3.1). Es ist möglich, dass GST-JerO, aufgrund einer Hinderung der Cofaktorbindung durch sterische Einflüsse von Seiten des GST-Tags eine niedrigere Aktivität aufweist. Eine niedrige Aktivität von JerO wirkt sich direkt auf die Aktivität von JerP aus, da JerO als Redoxpartner am Elektronentransfer der RIESKE-Oxygenase beteiligt ist. Auch beim Elektronentransfer zwischen der Monooxygenase JerO und dem RIESKE-[2Fe-2S]-Cluster der RIESKE-Oxygenase JerP kann der GST-Tag limitierend wirken, da er eventuell aufgrund seines Einflusses auf die Konformation von JerO eine Koordinierung der beiden Enzyme erschwert. Die erfolgreiche Biotransformation von Jerangolid E (**4**) mit His<sub>6</sub>-JerP und GST-JerO zu Jerangolid D (**2**) ist jedoch ein Indiz dafür, dass die enzymatische Aktivität der RIESKE-Oxygenasen wesentlich von JerO abzuhängen scheint.

### 3.10. *In vitro* Studien zur O-Methyltransferase

#### 3.10.1 Zeitlicher Verlauf der Enzymreaktion

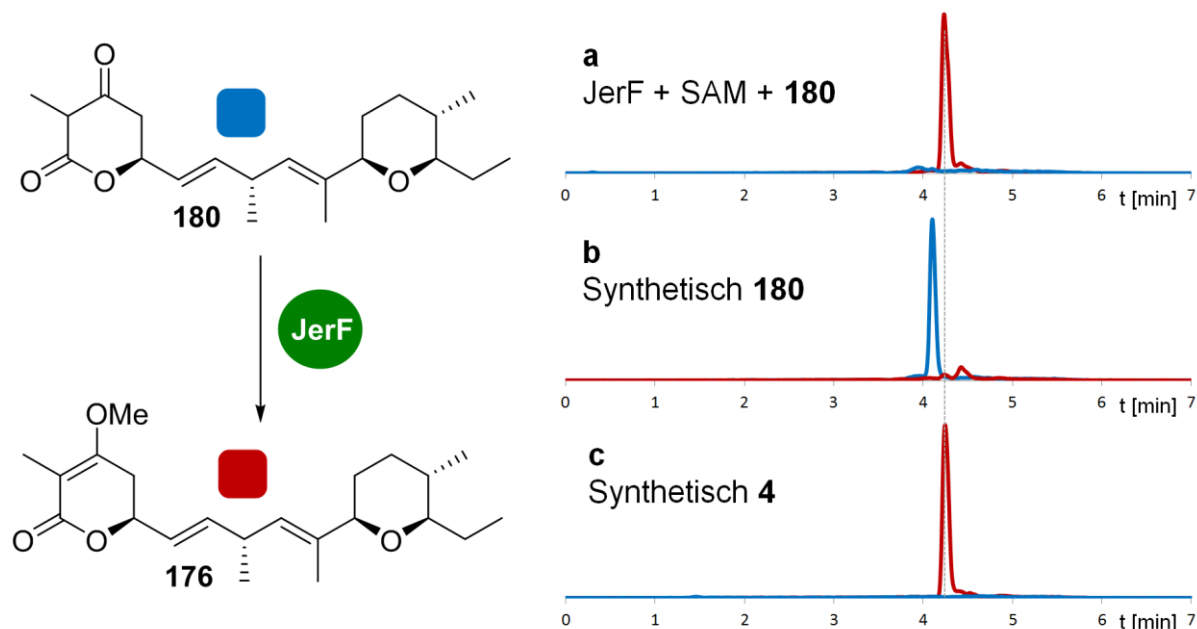
Die Methyltransferase JerF konnte bereits in vorhergehenden Arbeiten mit Hilfe von Umsetzungen unterschiedlicher 2,4-Pyandione von HAHN *et al.* charakterisiert werden. Da bei der Reinigung von JerF ein vollständiger Aktivitätsverlust festgestellt wurde, wurden die *in vitro* Enzymaktivitätstests mit zellfreiem Lysat einer JerF-überexprimierenden *E. coli*-Kultur durchgeführt. Hierbei konnte die katalytische Aktivität von JerF bei Verwendung des zellfreien Lysats in umfangreichen Kontrollexperimenten bestätigt werden.<sup>17</sup>

Als natürliches Substrat für JerF wurde der biosynthetische Vorläufer der Jerangolid-Familie Projerangolid (**8**) vermutet. Um dies zu bestätigen, sollte Projerangolid (**8**) *in vitro* mit JerF zu Jerangolid E (**4**) umgesetzt werden. Für die Biotransformation von Projerangolid (**8**) wurde zunächst JerF durch rekombinante Expression von *pCOLD-IjerF* in *E. coli* BL21(DE3) überexprimiert. Nach Aufschluss mittels Ultraschall wurde das zellfreie Lysat für die weiteren Enzymaktivitätstest benutzt.



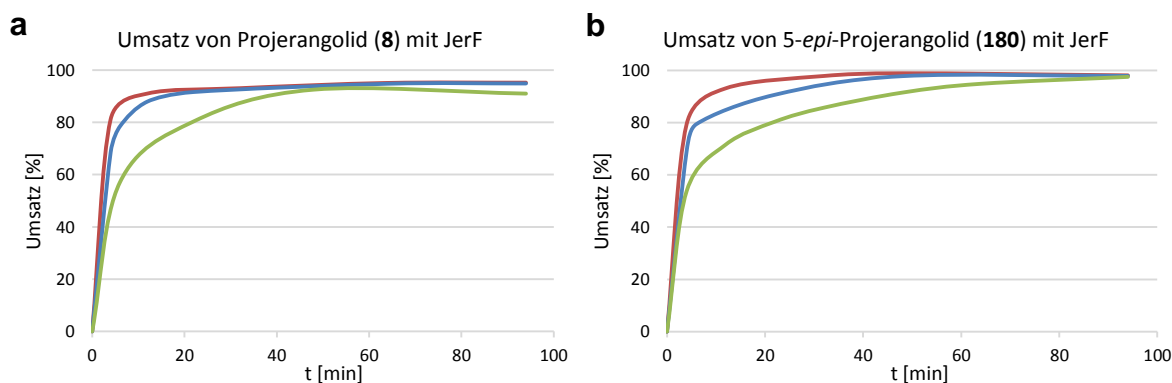
**Abbildung 16:** UPLC-MS-Analyse der Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF: **a**) Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF, Reaktionspuffer (25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.5) mit JerF (1.6 mg/mL Gesamtproteinkonzentration), 0.25 mM Projerangolid (**8**), 2.92 mM SAM-Tosylat, 28 °C, 20 h; **b**) Synthetisches Projerangolid (**8**); **c**) Synthetisches Jerangolid E (**4**); MS-Chromatogramme für *m/z* 371 (blau, **8**) und *m/z* 385 (rot, **4**).

Die Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit heterolog exprimiertem JerF zeigte vollständigen Umsatz zu Jerangolid E (**4**). Dies unterstützt die Vermutung, dass JerF in der Jerangolid-Biosynthese als erstes *Tailoring*-Enzym agiert und Projerangolid (**8**) der natürliche biosynthetische Vorläufer der Jerangolide ist.



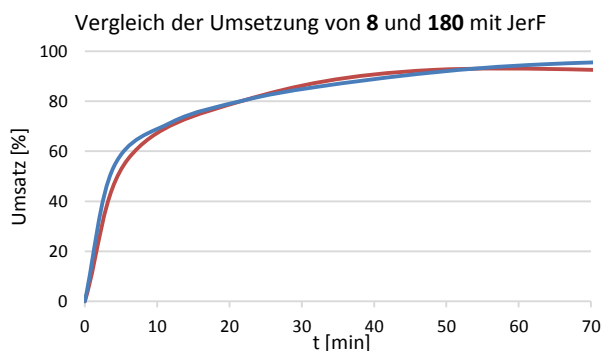
**Abbildung 17:** UPLC-MS-Analyse der Biotransformation von 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit JerF: **a**) Biotransformation von 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit JerF, Reaktionspuffer (25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.5) mit JerF (1.6 mg/mL Gesamteproteinkonzentration), 0.25 mM 5-*epi*-Projerangolid (**180**), 2.92 mM SAM-Tosylat, 28 °C, 20 h; **b**) Synthetisches 5-*epi*-Projerangolid (**180**); **c**) Synthetisches Jerangolid E (**4**); MS-Chromatogramme für  $m/z$  371 (blau, **8**) und  $m/z$  385 (rot, **4**).

Die erfolgreiche Synthese von 5-*epi*-Projerangolid (**180**) (siehe Kapitel 3.5) ermöglichte die Untersuchung des Einflusses von strukturellen Veränderungen in der Nähe des aktiven Zentrums auf die Biotransformation mit JerF. Interessanterweise wurde 5-*epi*-Projerangolid (**180**) unter denselben Bedingungen wie Projerangolid (**8**) ebenfalls vollständig methyliert. Das gebildete Produkt besaß dabei dieselbe Retentionszeit wie Jerangolid E (**4**). Durch Vergleich der Retentionszeit mit synthetisch hergestelltem 5-*epi*-Jerangolid E (**176**) konnte nachgewiesen werden, dass 5-*epi*-Jerangolid E (**176**) das Produkt der Biotransformation von 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit JerF ist (siehe Abbildung 30, Kapitel 5.1.3.2). Um den zeitlichen Verlauf der beiden Enzymreaktion vergleichend zu untersuchen wurden Projerangolid (**8**) und 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit unterschiedlichen Lysatkonzentrationen umgesetzt.



**Abbildung 18:** Zeitverlauf der Biotransformation von Projerangolid (**8**) und 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit JerF: **a**) Umsatz von Projerangolid (**8**); **b**) Umsatz von 5-*epi*-Projerangolid (**180**); Rot = 1.90 mg/mL Gesamtproteinkonzentration, blau = 0.95 mg/mL Gesamtproteinkonzentration, grün = 0.48 mg/mL Gesamtproteinkonzentration. Umsatz wurde bestimmt über Verhältnis der Integrale für  $m/z$  371 (Substrat) und  $m/z$  385 (Produkt) durch UPLC-MS-Analyse.

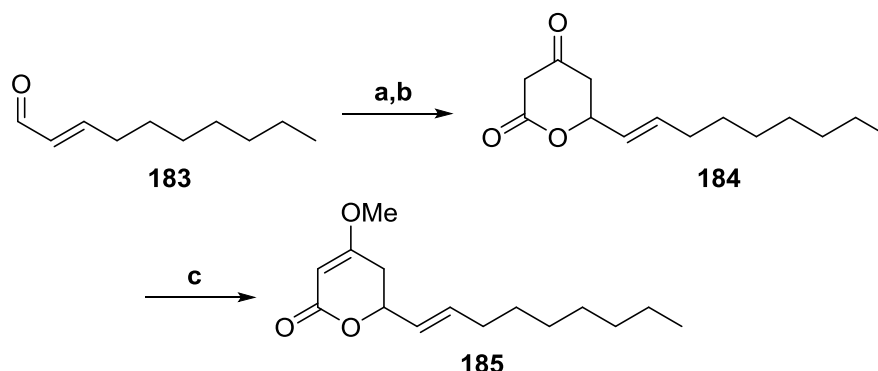
Die Untersuchung des zeitlichen Verlaufs der Enzymreaktion zeigte, dass nach ca. 40 min sowohl für Projerangolid (**8**), als auch 5-*epi*-Projerangolid (**180**) unabhängig von der Lysatkonzentration ein nahezu vollständiger Umsatz erreicht wurde. Bei Verwendung von unverdünntem Lysat wurde der vollständige Umsatz bereits nach ca. 10 min erreicht.



**Abbildung 19:** Vergleich des zeitlichen Verlaufs der Biotransformation von Projerangolid (**8**) (rot) und 5-*epi*-Projerangolid (**180**) (blau), 0.48 mg/mL Gesamtproteinkonzentration.

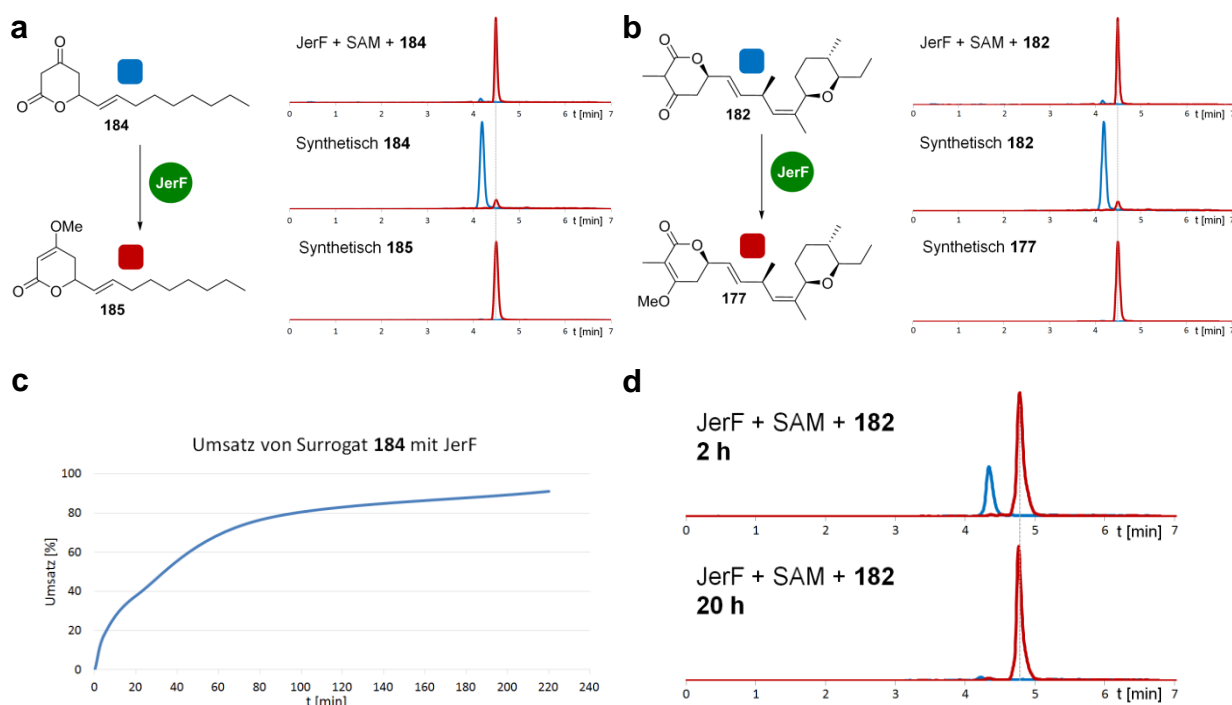
Im Vergleich der Reaktionen von JerF mit **8** und **180** (Abbildung 19) ist zu erkennen, dass JerF nicht wesentlich zwischen den beiden Epimeren differenziert und die Reaktionsgeschwindigkeit unabhängig von der Stereokonfiguration an C-5 zu sein scheint. Dies zeigt, dass JerF Projerangolid-Derivaten mit wesentlichen strukturellen Veränderungen in der Nähe zur Methylierungsstelle akzeptiert.

Um zu untersuchen, inwiefern die Enzymreaktion von der Alkenkette und dem Pyranmotiv beeinflusst wird, wurden zusätzlich auch 9-(Z)-Projerangolid (**182**) und das Substratsurrogat **184** für Biotransformationen mit JerF verwendet.<sup>132</sup>



**Schema 74:** Synthese von Substratsurrogat **18**: **a)** Methylacetoacetat, NaH, *n*BuLi, THF, 0 °C, 30 min, 73%; **b)** 1 M NaOH, 0 °C, 1 h, dann konz. HCl, RT, 16 h, 95%; **c)** K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeI, Aceton, RT, 23 h, 10%.

Surrogat **184** wurde durch Aldolreaktion von (*E*)-2-Decenal **183** und Methylacetoacetat mit anschließender Cyclisierung erhalten und die entsprechende synthetische Produktreferenz **185** wurde durch Methylierung von **184** mit Methyljodid gewonnen.



**Abbildung 20:** Biotransformation von Substratsurrogat **184** und 9-(Z)-Projerangolid (**182**): **a)** Biotransformation von Substrat **184** mit JerF; **b)** Biotransformation von 9-(Z)-Projerangolid (**182**); **c)** Zeitverlauf der Biotransformation von Substrat **184**; **d)** Umsatz von 9-(Z)-Projerangolid (**182**) nach 2 h und 20 h.

Sowohl 9-(Z)-Projerangolid (**182**), als auch das Substratsurrogat **184** wurden vollständig durch JerF zu den entsprechenden methylierten Produkten umgesetzt. Die genauere Betrachtung des Zeitverlaufs der Enzymreaktion mit Substrat **184** zeigte, dass im Gegensatz zu Projerangolid (**8**) ein nahezu vollständiger Umsatz erst nach ca. 3 h erreicht wurde (Abbildung 20, c). Es wurde vermutet, dass das Pyranmotiv eine Bindung in der aktiven Tasche von JerF begünstigt. Bei Betrachtung der amphiphilen Struktur von Substrat **184** ist jedoch auch zu berücksichtigen, dass die lange unpolare Alkylkette im Vergleich zu Projerangolid (**8**) vermehrt die Ausbildung von Mizellen in wässriger Lösung begünstigt. Ebenso sind membranartige Strukturen durch die Anlagerung der Alkylketten aneinander denkbar. Die Ausbildung von Mizellen und verwandten Strukturen könnte die Verfügbarkeit des Substrats für die Enzymreaktion herabsetzen und somit zu einer Minderung der Reaktionsgeschwindigkeit führen. Daher kann die langsamere Reaktion von Substrat **184** im Vergleich zu Projerangolid (**8**) nicht nur auf Substrat-Bindungseffekte zurückgeführt werden.

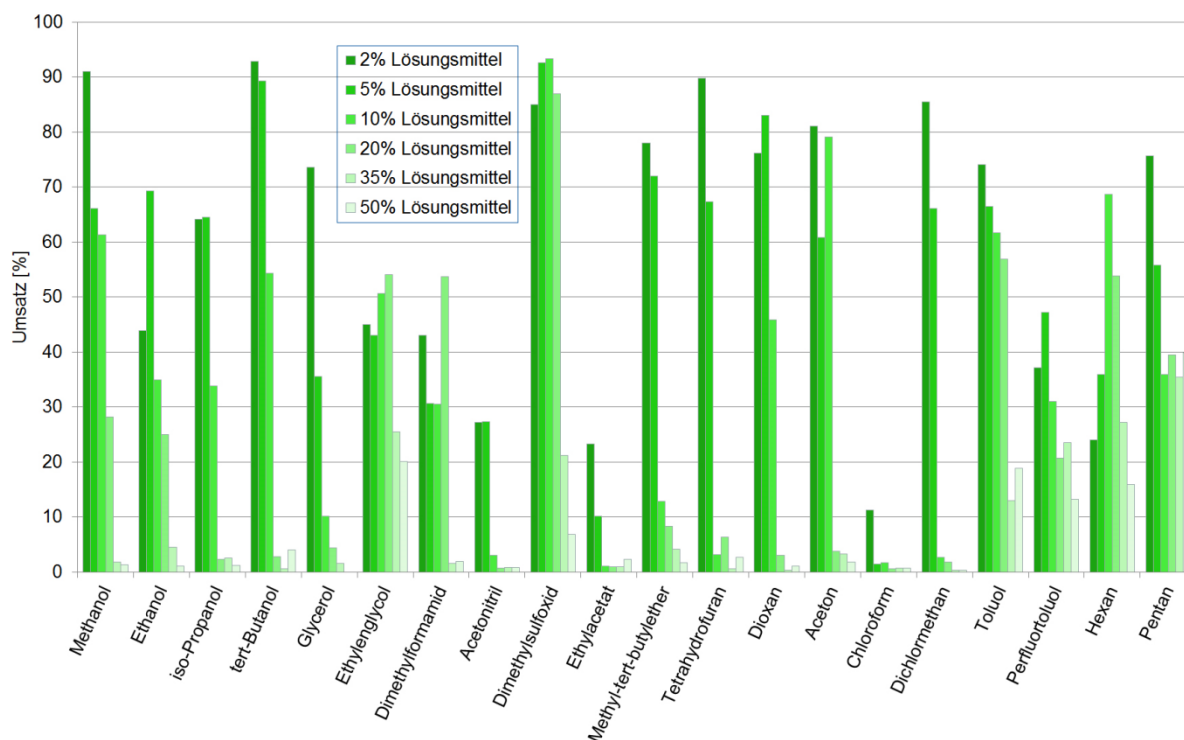
Beim Umsatz von 9-(Z)-Projerangolid (**182**) wurde festgestellt, dass nach zwei Stunden nur ein Umsatz von 70% erreicht wurde (Abbildung 20, d). Die (Z)-Konfiguration der Doppelbindung neben dem Pyranmotiv bedingt eine deutliche Veränderung der räumlichen Struktur des Moleküls im Vergleich zu 9-(E)-Projerangolid (**8**). Bei der Substratbindung kann der hieraus resultierende andere sterische Anspruch zu einer langsameren Substratbindung führen, wodurch ein langsamerer Umsatz zu beobachten ist. Gegebenenfalls übt der Pyranring bei der Bindung des natürlichen Substrats einen stabilisierenden Effekt aus, was zu einer schnelleren Umsetzung führt. Die für Substrat **184** beschriebenen Lösungseffekte sind aufgrund der Komplexität des unpolaren Bereichs von **182** unwahrscheinlich, jedoch nicht vollständig auszuschließen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass JerF eine breite Substrattoleranz auch bezüglich vom aktiven Zentrum weiter entfernter Modifikationen zeigt. Die Biotransformationen mit JerF hängen in ihrer Geschwindigkeit zum einen wie erwartet von der Gesamtproteinmenge des verwendeten Lysats ab, zum anderen auch von den strukturellen Gegebenheiten an vom aktiven Zentrum weiter entfernten Stellen des Moleküls. Insbesondere die Konfiguration der C-9 Doppelbindung scheint Einfluss auf die Enzymreaktion zu haben.

### 3.10.2 Lösungsmitteltoleranz

Um die Anwendungsmöglichkeiten von JerF als Biokatalysator für Biotransformationen innerhalb organischer Synthesen zu erweitern, sollte zunächst die Lösungsmitteltoleranz näher untersucht werden. Die Toleranz gegenüber unterschiedlichen Lösungsmitteln würde es

ermöglichen JerF direkt in organischen Synthesen zu verwenden, so dass Intermediate als Rohprodukte ohne aufwendige Reinigung umgesetzt werden könnten. Zudem könnte die Umsetzung von Substraten mit schlechten Löslichkeitseigenschaften durch die Nutzung von organischen Lösungsmitteln als Cosolventien verbessert werden.

Zur Ermittlung der Lösungsmitteltoleranz von JerF wurde die Biotransformation von Substrat **184** mit JerF in Gegenwart von steigenden Lösungsmittelkonzentrationen durchgeführt. Durch den steigenden Anteil an Lösungsmittel kommt es gleichzeitig durch Verringerung der Lysatmenge bei gleichbleibendem Gesamtvolumen zur Senkung der Gesamtproteinkonzentration, was eine leichte Verlangsamung der Reaktion bewirkt. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse für den zeitlichen Verlauf der Reaktion wurden daher alle Experimente für 4 h und 20 min bei 28 °C inkubiert und die Lösungsmittelkonzentration nur bis 50% (v/v) gesteigert, um einen vollständigen Ablauf der Reaktion zu gewährleisten.



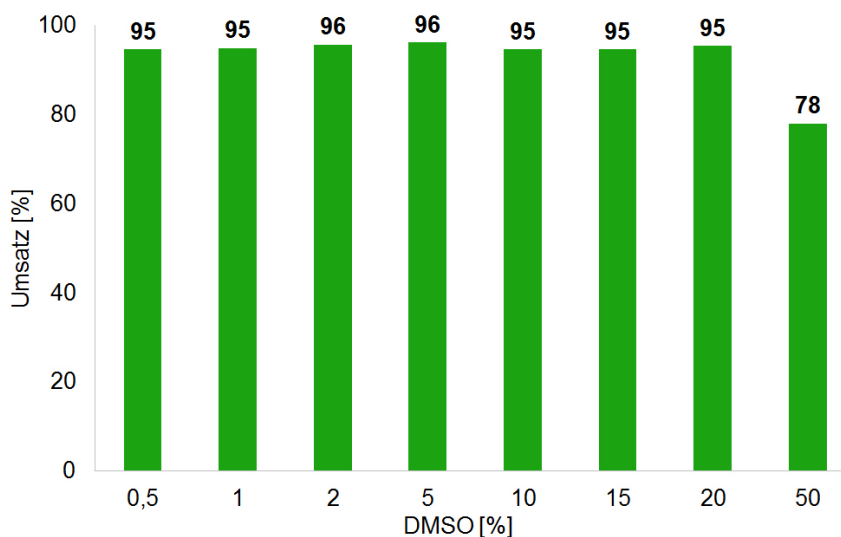
**Abbildung 21:** Lösungsmitteltoleranz von JerF beim Umsatz von Substrat **184**. Bedingungen für die Enzymreaktion: Reaktionspuffer (25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.5) mit JerF (1.9 mg/mL Gesamtproteinkonzentration), 0.25 mM Substrat **184**, 1.00 mM SAM-Tosylat, 2-50% (v/v) organisches Lösungsmittel, 28 °C, 4.3 h, 600 rpm.

Erfreulicherweise konnte für JerF eine breite Toleranz gegenüber verschiedenen, organischen Lösungsmitteln festgestellt werden. In niedrigen Konzentrationen von 2% (v/v) wurden mit Ausnahme von Acetonitril, Ethylacetat und Chloroform alle getesteten Lösungsmittel gut



toleriert. Ein sehr guter Umsatz von  $>85\%$  wurde hierbei mit Methanol, *tert*-Butanol, DMSO und THF erhalten. Mit steigendem Lösungsmittelanteil wurde in den meisten Fällen eine zunehmende Proteinaggregation beobachtet, welche den gleichzeitig abfallenden Umsatz durch Verlust an Katalysator erklärt. Eine Ausnahme bildeten die unpolaren Lösungsmittel Toluol, Perfluortoluol, Hexan und Pentan, welche auch bei höherem Lösungsmittelanteil noch in gewissem Maße toleriert wurden. Grund hierfür könnte die schnelle Ausbildung von differenzierten Zwei-Phasen-Systemen sein, bei denen die Proteinaggregation nur an der Phasengrenze stattfindet. Desweiteren kann auch die unterschiedliche Verteilung des Substrats zwischen den Phasen wesentlichen Einfluss auf den Umsatz ausüben. Bemerkenswert ist, dass bei der Verwendung von Pentan selbst bei einer Konzentration von 50% (v/v) noch ein Umsatz von 40% erreicht werden kann. Von allen getesteten Lösungsmitteln wurde für DMSO die höchste Toleranz beobachtet, selbst bei Konzentrationen bis zu 20% (v/v) konnten noch exzellente Umsätze von  $>85\%$  erhalten werden.

Da DMSO in der Umsetzung von Substrat **184** mit JerF sich als am besten geeignetes Cosolvents herausstellte, sollte dies zusätzlich im Umsatz mit dem natürlichen Substrat Projerangolid (**8**) bestätigt werden.



**Abbildung 22:** Toleranz von JerF gegenüber steigendem Anteil an DMSO bei der Reaktion mit Projerangolid **8**.

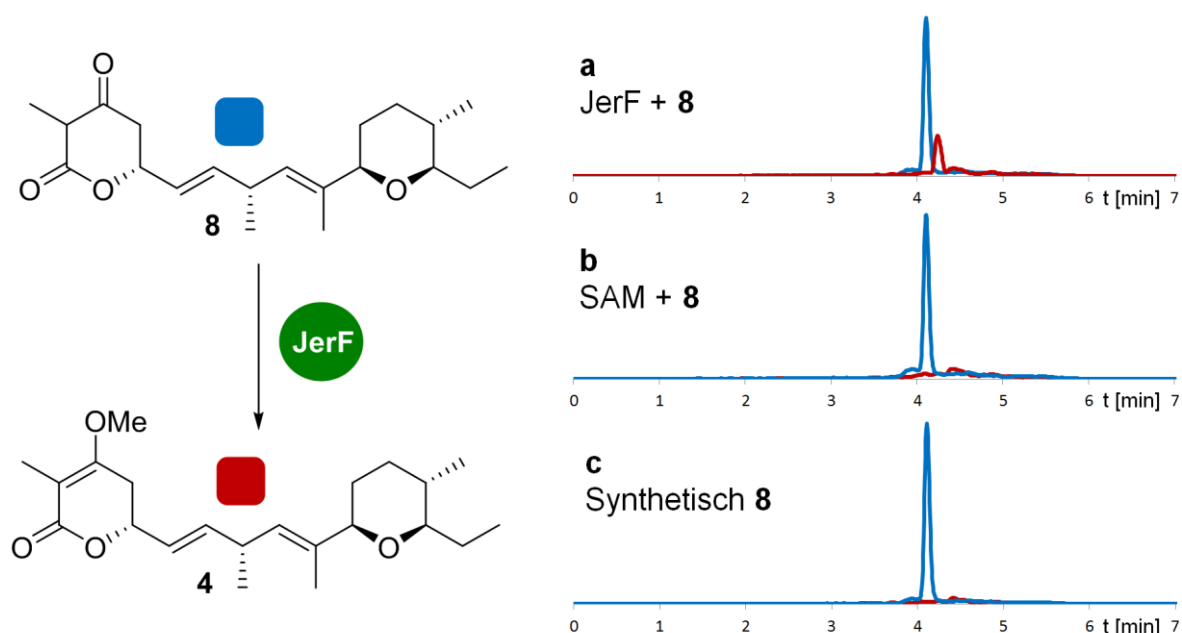
Für die Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit DMSO als Cosolvents war erst bei einer Konzentration von 50% (v/v) ein leichter Abfall des Umsatzes zu verzeichnen. Im Gegensatz hierzu kam es für Substrat **184** bereits bei einer Konzentration von 35% (v/v) zu wesentlichen Einbußen im Umsatz. Dies lässt sich vermutlich darauf zurückführen, dass die Reaktion mit

dem natürlichen Substrat wesentlich schneller erfolgt. Der Prozess der Proteinaggregation ist bei niedrigeren Konzentrationen von DMSO vermutlich langsamer als die enzymatische Umsetzung, sodass ein merklicher Abfall des Umsatzes erst bei höheren Konzentrationen von DMSO festgestellt werden konnte.

### 3.10.3 Studien zur Enzymkaskade für Cofaktorbildung

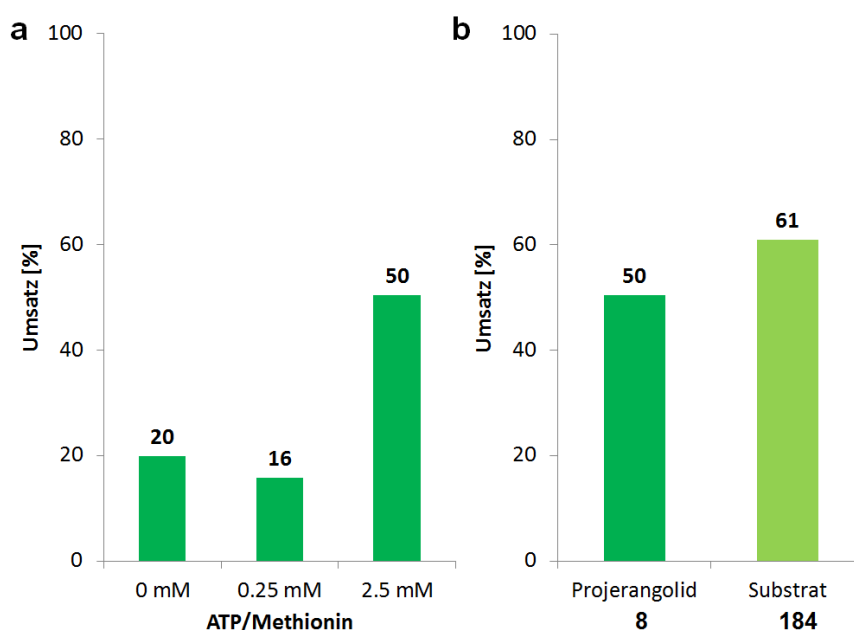
Wie bereits in Kapitel 1.3 beschrieben ist der Cofaktor SAM ein limitierender Faktor für die Verwendung von *O*-Methyltransferasen als Biokatalysatoren. Nachdem gezeigt werden konnte, dass JerF nicht nur eine breite Substrattoleranz, sondern auch eine hohe Lösungsmitteltoleranz besitzt, sollte im Weiteren die Enzymreaktion von JerF mit einem Regenerationssystem für JerF verbunden werden. Hierfür wurde zunächst angestrebt eine lineare Enzymkaskade für die *in vitro* Synthese von SAM und den Abbau von SAH analog zu dem von ANDEXER *et al.* beschriebenen System in Kombination mit JerF zu etablieren.<sup>77,79</sup>

In Kontrollexperimenten zur Aktivität von JerF wurde festgestellt, dass bei Verwendung des Lysats einer JerF-überexprimierenden *E. coli* Kultur auch ohne die Zugabe von SAM ein gewisser Umsatz beobachtet werden konnte.<sup>17</sup>



**Abbildung 23:** Kontrollexperimente für die Biotransformation von Projerangolid (8) mit JerF: **a)** Reaktionspuffer (25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.5) mit JerF (1.6 mg/mL Gesamtproteinkonzentration), 0.25 mM Projerangolid (8); **b)** Reaktionspuffer, 0.25 mM Projerangolid (8) und 2.92 mM SAM-Tosylat; **c)** Reaktionspuffer, 0.25 mM Projerangolid (8).

Auch in Biotransformationen von Projerangolid (**8**) mit JerF ohne Zugabe des Cofaktors SAM wurden Umsätze von bis zu 20% zu Jerangolid E (**4**) beobachtet. Es wurde vermutet, dass sich diese Restaktivität des Lysats auf zellulär gebildetes SAM zurückführen lässt. Das Ergebnis der Kontrollexperiment wurde als Möglichkeit gesehen, das zellfreie Lysat nicht nur für Biotransformationen mit JerF, sondern gleichzeitig auch für die *in situ* Bildung des benötigten Cofaktors SAM zu nutzen. Im *E. coli* Metabolismus wird SAM durch EcMAT aus ATP und L-Methionin gebildet und EcMTAN ist für den Abbau des Nebenproduktes SAH der Methylierungsreaktion verantwortlich. Beide Enzyme sind als wesentlicher Bestandteil des *E. coli* Metabolismus auch in sehr geringen Konzentrationen im Lysat vorhanden, welches für die Biotransformationen genutzt wurde. Es wurde daher angenommen, dass durch die Zugabe von ATP und L-Methionin zum Lysat die Basisexpression der metabolischen Enzyme für eine ausreichende SAM-Bildung genutzt werden kann und somit ebenfalls die Biotransformation von Projerangolid (**8**) zu Jerangolid E (**4**) erreicht werden kann.



**Abbildung 24:** Umsatz von Projerangolid (**8**) mit JerF in Gegenwart von ATP und L-Methionin: **a**) Reaktionspuffer (100 mM HEPES, 200 mM KCl, 20 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.8) mit JerF (1.1 mg/mL Gesamtproteinkonzentration), 0.25 mM Projerangolid (**8**), 0.25 mM ATP/L-Methionin; Enzymaktivitätstest mit 2.5 mM ATP/L-Methionin in alternativem Reaktionspuffer (30 mM HEPES, 100 mM KCl, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.6), alle Aktivitätstest: 30 °C, 20 h; **b**) Vergleich des Umsatzes von Projerangolid (**8**) und Substrat **184** im alternativen Reaktionspuffer und 2.5 mM ATP/L-Methionin.

Zu Überprüfung der Hypothese wurde die Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF in Gegenwart von ATP und L-Methionin durchgeführt. Die Enzymaktivitätstests mit ATP/

L-Methionin wurden zunächst in einem Puffersystem mit hohen Magnesium- und Kaliumionenkonzentration durchgeführt. Dieses wurde analog zum von ANDEXER *et al.* verwendeten Puffersystem für eine lineare Enzymkaskade für die *in situ* SAM-Generierung mit TkMAT gewählt.<sup>79</sup> Die Magnesiumionen sind neben Kaliumionen wichtig für die Aktivität der MAT und fördern ebenfalls die Aktivität der Methyltransferase. Im weiteren Verlauf wurde ebenfalls ein alternatives Puffersystem mit niedrigeren Ionenkonzentrationen verwendet, welches eine Kombination aus dem von ANDEXER *et al.* verwendeten Puffersystem und dem von HAHN *et al.* für die Biotransformation mit JerF verwendeten Puffersystem darstellt.<sup>17,79</sup>

Bei Zugabe äquimolarer Mengen ATP/L-Methionin im Verhältnis zu Projerangolid (**8**) wurde keine wesentliche Änderung im Vergleich zum Grundumsatz des Lysats beobachtet. Erst bei einer deutlich höheren Konzentration an ATP und L-Methionin wurde eine sichtbare Verbesserung des Umsatzes festgestellt. Durch Zugabe von 2.5 mM ATP/L-Methionin konnte ein Umsatz von 50% für Projerangolid (**8**) zu Jerangolid E (**4**) erreicht werden (Abbildung 24). Dies entspricht der 10-fachen Menge des Substrats für die Methyltransferase, von einer weiteren Konzentrationserhöhung wurde daher abgesehen. Für das vereinfachte Substrat **184** konnten unter denselben Bedingungen mit 61% ein leicht höherer Umsatz erhalten werden. Da EcMAT und EcMTAN nur in Konzentrationen entsprechend der Basisexpression von *E. coli* vorlagen lag die Überlegung nahe, diese in höherer Konzentration zuzugeben und somit den Umsatz der Enzymkaskade zu beeinflussen.

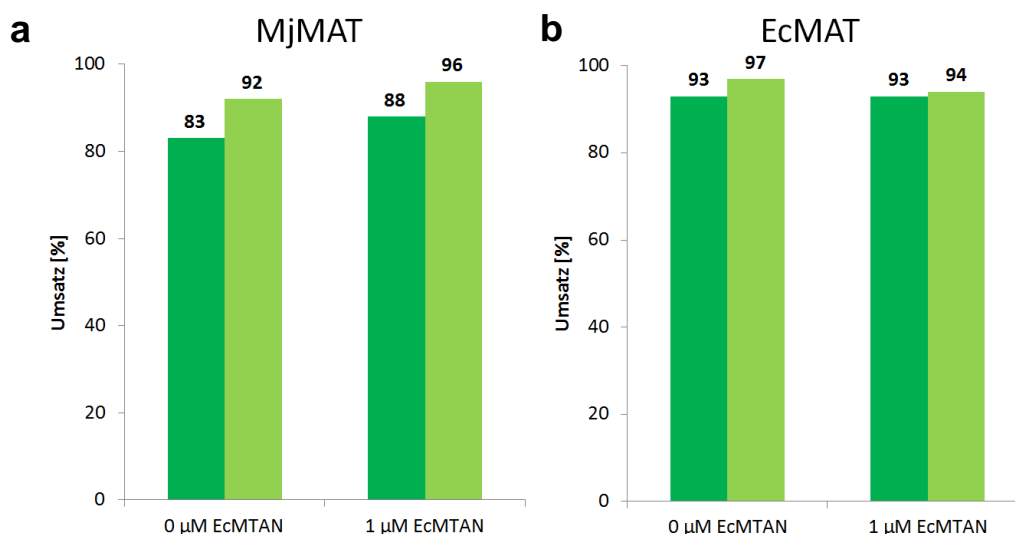
Gleichzeitig sollte auch die Verwendung von MATs aus Archaeen untersucht werden, da diese bedingt durch ihre Herkunft aus extremophilen Organismen häufig eine verbesserte Stabilität aufweisen. Sie sind daher für den Einsatz als Biokatalysatoren gut geeignet, da sie unter Bedingungen aktiv sind, bei denen konventionelle Proteine denaturieren und ihre Aktivität verlieren.<sup>138</sup> Die Reaktionsgeschwindigkeit von Enzymen aus thermophilen Organismen ist bedingt durch ihr natürliches Habitat bei hohen Temperaturen optimal, allerdings ist häufig auch bei Raumtemperatur noch eine reduzierte Reaktionsgeschwindigkeit vorhanden.<sup>139</sup> Die gut untersuchte MjMAT aus *Methanocaldococcus jannaschii* hat bei 70 °C eine vergleichbare Aktivität wie EcMAT bei 37 °C. Die breite Substrattoleranz eröffnet neben der verbesserten Thermostabilität allerdings auch die Möglichkeit für die Synthese von SAM-Analoga welche eine Derivatisierung der Methyltransferase-Substrate ermöglichen

<sup>138</sup> K. Egorova, G. Antranikian, *Curr. Opin. Microbiol.* **2005**, 8, 649–655.

<sup>139</sup> J. A. Littlechild, *Biochem. Soc. Trans.* **2011**, 39, 155–158.

könnte.<sup>140,141</sup> *MjMAT* sollte daher im Vergleich mit *EcMAT* untersucht werden. ANDEXER *et al.* konnten 2013 *TkMAT* aus *Thermococcus kodakarensis* charakterisieren und bereits für eine Enzymkaskade für die Bildung von SAM zusammen mit unterschiedlichen Methyltransferasen nutzen.<sup>79,142</sup> *TkMAT* sollte daher ebenfalls als alternative MAT in der Biotransformation von Projerangolid mit JerF getestet werden.

Für die weitere Untersuchung der Biotransformation mit *in situ* Bildung von SAM aus ATP/L-Methionin wurden die Enzyme *EcMAT*, *MjMAT*, *TkMAT*, und *EcMTAN* in *E. coli* exprimiert und durch Ni-NTA Affinitätschromatographie gereinigt.



**Abbildung 25:** Vergleich der Umsätze für die Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF und *MjMAT*/*EcMAT* für Cofaktorbildung: **a)** Umsätze *MjMAT*; **b)** Umsätze *EcMAT*. Reaktionspuffer (30 mM HEPES, 100 mM KCl, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.6) mit JerF (1.4 mg/mL Gesamtproteinkonzentration), 10 µM *MjMAT*/*EcMAT*, 1 µM *EcMTAN*, 0.25 mM Substrat, 2.5 mM ATP/L-Methionin; 30 °C, 18 h. dunkelgrün = Umsätze für Projerangolid (**8**); hellgrün = Umsätze für Substrat **184**.

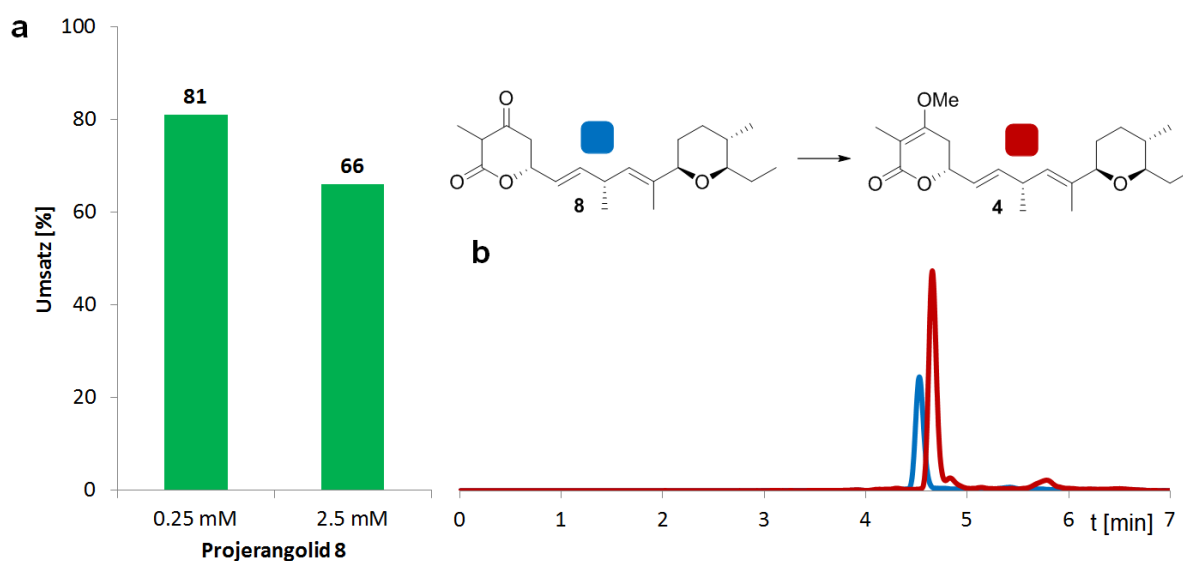
Um die Aktivität von *MjMAT* im Vergleich zu *EcMAT* zu untersuchen wurden Projerangolid (**8**) und das Substrat **184** in Gegenwart von einem Überschuss ATP/L-Methionin mit JerF und *MjMAT*/*EcMAT* umgesetzt. Ebenso wurde die Konzentration von *EcMTAN* variiert. In allen Fällen konnte durch zusätzliche Zugabe von MAT eine deutliche Erhöhung des Umsatzes im Vergleich zur Biotransformation mit dem Lysat beobachtet werden. Bei Zugabe von *EcMTAN* zeigt sich weder für die Biotransformationen mit

<sup>140</sup> D. E. Graham, C. L. Bock, C. Schalk-Hihi, Z. J. Lu, G. D. Markham, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 4055–4059.

<sup>141</sup> Z. J. Lu, G. D. Markham, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 16624–16631.

<sup>142</sup> J. Schlesier, J. Siegrist, S. Gerhardt, A. Erb, S. Blaesi, M. Richter, O. Einsle, J. N. Andexer, *BMC Struct. Biol.* **2013**, 13, 22.

zusätzlicher *EcMAT* noch *MjMAT* ein merklicher Effekt, was dafür spricht, dass bei der Konzentration der Basisexpression bereits eine ausreichende Hydrolyse von SAH stattfindet. ANDEXER *et al.* beschrieben ebenfalls, dass *EcMTAN* unter den getesteten Bedingungen zu den aktivsten Enzymen in der Enzymkaskade gehört.<sup>79</sup> *EcMAT* zeigt für die Cofaktorbildung im Vergleich zu *MjMAT* ein geringfügig besseres Gesamtergebnis in der Biotransformation mit JerF (Abbildung 25). Dies lässt sich wahrscheinlich auf die geringere Reaktionsgeschwindigkeit von *MjMAT* bei 30 °C zurückführen. Reste der zellulären Matrix von *E. coli* könnten zudem gegebenenfalls *EcMAT* als organismuseigenes Enzym besser stabilisieren. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch die zusätzliche Zugabe von gereinigter MAT zum Lysat, eine effiziente Enzymkaskade bestehend aus *MjMAT*/*EcMAT*, JerF und *EcMTAN* erhalten wurde. Mit dieser Enzymkaskade war die Biotransformation von Projerangolid (**8**) und Substrat **184** mit nahezu vollständigem Umsatz unter Verwendung von ATP als Cofaktor möglich und zwei der wesentlichen Komponenten (JerF und *EcMTAN*) konnten in ausreichender Konzentration direkt über das Lysat erhalten werden.



**Abbildung 26:** Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF und *TkMAT* für die Cofaktorbildung: **a**) Umsatz von 0,25 mM und 2,5 mM Projerangolid (**8**); **b**) UPLC-MS Chromatogramm Umsetzung 2,5 mM Maßstab. Reaktionspuffer (100 mM HEPES, 200 mM KCl, 20 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7,8) mit JerF (1,0 mg/mL Gesamteproteinkonzentration), 9 µM *TkMAT*, 1,5 µM *EcMTAN*, 0,25/2,5 mM Projerangolid (**8**), 0,5/1,0 mM ATP/L-Methionin; 37 °C, 18 h.

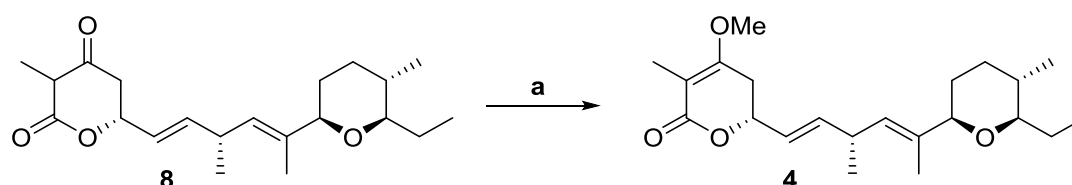
In der Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF und *TkMAT* für die Cofaktorbildung wurde ein Umsatz von 81% bereits bei einer ATP/L-Methionin-Konzentration von nur 0,5 mM erreicht, wohingegen für einen vergleichbaren Umsatz mit *MjMAT* 2,5 mM ATP/L-Methionin verwendet wurden. Die Enzymaktivitätstests mit *TkMAT* zeigten zudem

während des Reaktionsverlaufs nur eine geringe Proteinaggregation. Dies wurde zum Anlass genommen die Biotransformation in einer höheren Konzentration mit *TkMAT* durchzuführen. Eine höhere Konzentration hätte für die biokatalytische Anwendung den Vorteil, dass weniger Lysat benötigt wird und die Reaktion somit ressourceneffizienter gestaltet werden kann. Für die Ressourceneffizienz ist ebenso die Menge des eingesetzten Cofaktors relevant. Die Verwendung von ATP stellt eine Verbesserung zu der Verwendung des instabilen Cofaktors SAM dar, allerdings ist auch hier eine Reduzierung der benötigten Menge wünschenswert.

Für die Umsetzung von Projerangolid (**8**) im 2.5 mM Maßstab wurden 1.0 mM ATP/L-Methionin verwendet und ein Umsatz von 66% erhalten. Somit konnte gezeigt werden, dass durch Verwendung des Lysats zusammen mit *TkMAT* und ATP/L-Methionin in unterstöchiometrischen Mengen ein zufriedenstellender Umsatz erhalten werden kann. Auch bei erhöhter Proteinkonzentration im Enzymaktivitätstest war nur eine geringe Proteinaggregation zu beobachten. Die geringe Proteinaggregation auch bei höheren Konzentrationen ist ein wesentlicher Vorteil für die spätere Isolierung der gebildeten Produkte.

#### 3.10.4 Biotransformation von Projerangolid im semipräparativen Maßstab

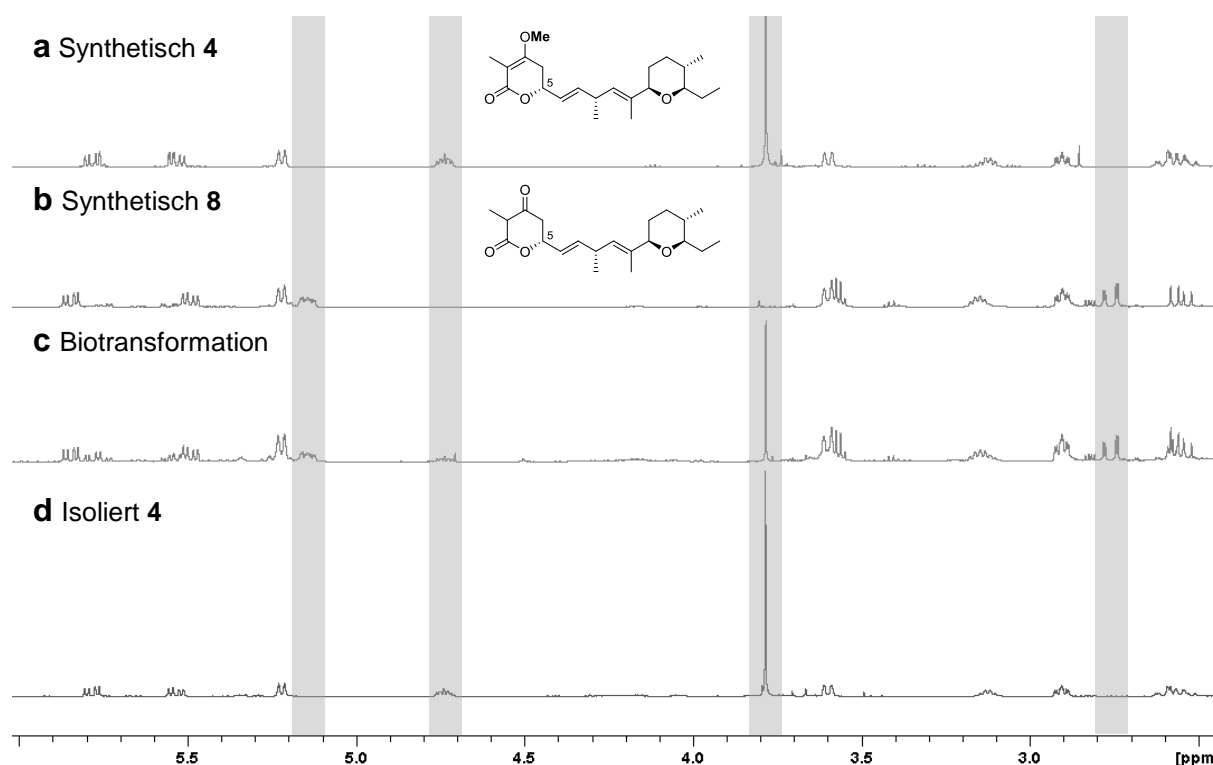
Aufgrund der positiven Ergebnisse für die Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF und *TkMAT* für die Cofaktorbildung aus ATP und L-Methionin wurde eine chemoenzymatische Umsetzung von Projerangolid (**8**) im semi-präparativen Maßstab angestrebt.



**Schema 75:** Chemoenzymatische Umsetzung von Projerangolid (**8**): **a**) Reaktionspuffer (30 mM HEPES, 100 mM KCl, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.6) mit JerF (3.3 mg/mL Gesamtproteinkonzentration), 3.1 μM *TkMAT*, 1.5 μM *EcMTAN*, 1.38 mM Projerangolid (**8**), 3.32 mM ATP/L-Methionin; 30 °C, 20 h, 26% (Rohausbeute).

Für die chemoenzymatische Umsetzung von Projerangolid (**8**) im semi-präparativen Maßstab wurden 7.0 mg Projerangolid (**8**) mit Lysat einer JerF überexprimierenden *E. coli*-Kultur und *TkMAT* für die Cofaktorbildung in Gegenwart von ATP und L-Methionin umgesetzt. Jerangolid E (**4**) konnte aus dem Extrakt der chemoenzymatischen Umsetzung durch Säulenchromatographie in einer Rohausbeute von 26% isoliert werden. Wie bereits für vorangehende Biotransformationen im semi-präparativen Maßstab mit JerF beschrieben,

wurde auch bei der Biotransformation von Projerangolid (**8**) eine nicht abzutrennende, aliphatische Verunreinigung coeluiert.<sup>17</sup> Eine mögliche Ursache für die geringe Ausbeute ist der Einschluss von Produkt in Proteinaggregaten, wodurch eine Extraktion erschwert wird. Basierend auf reisoliertem Projerangolid (**8**) wurde ein Umsatz von ca. 60% erreicht. Dies entspricht ungefähr derselben Ausbeute wie im analytischen Maßstab bei höheren Konzentrationen (2.5 mM, siehe Abbildung 26). Anzumerken ist hierbei, dass die Gesamtproteinkonzentration mit 3.3 mg/mL im semipräparativen Maßstab deutlich höher lag als im analytischen Maßstab. Ein Ausschnitt aus der <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopische Analyse der Biotransformation ist in (Abbildung 27) dargestellt.



**Abbildung 27:** Ausschnitt aus <sup>1</sup>H-NMR-Spektren (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) für die chemoenzymatische Umsetzung von Projerangolid (**8**) mit JerF zu Jerangolid E (**4**): **a**) Synthetisches Jerangolid E (**4**); **b**) Synthetisches Projerangolid (**8**); **c**) Ethylacetat-Extrakt der Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF; **d**) Isoliertes Jerangolid E (**4**) aus der Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF. In grau hervorgehoben sind charakteristische Signale des Pyrandionmotivs.

Charakteristisch für die erfolgreiche Umsetzung von Projerangolid (**8**) zu Jerangolid E (**4**) ist eine Veränderung der Signale des Pyrandionmotivs. Wesentliche Indikatoren für die Methylierung von Projerangolid (**8**) durch JerF bilden das Singulett der übertragenen Methylgruppe des neu gebildeten Methylenolether bei 3.79 ppm, sowie das Signal des C-5-Protons, für das eine Verschiebung von 5.14 ppm zu 4.74 ppm beobachtet wird. Die diastereotopie Aufspaltung der C-4-Protonen wird ebenfalls entscheidend beeinflusst.

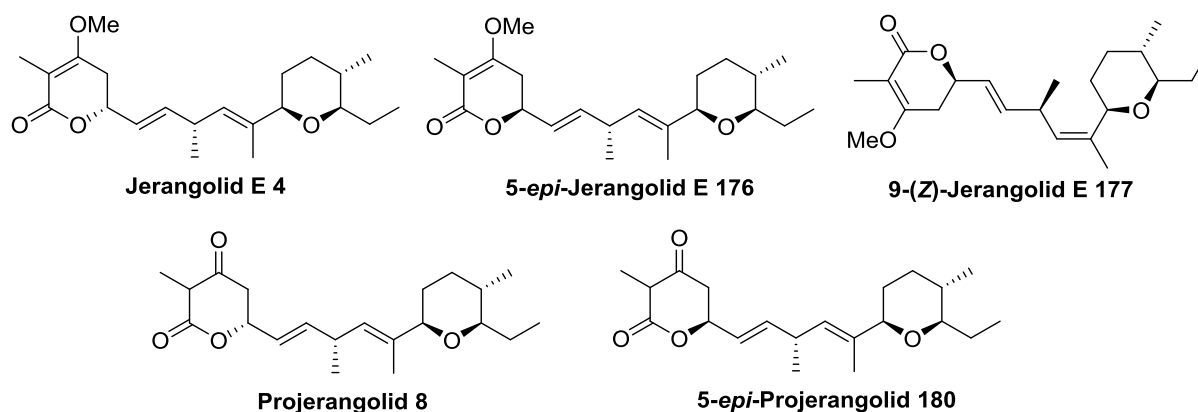


Während für Projerangolid (**8**) eine differenzierte Aufspaltung der beiden Protonen an C-4 durch den Einfluss der  $\pi$ -Orbitale der Carbonylgruppe an C-3 zu beobachten ist, führt die Einführung des Methylenolethers für Jerangolid E (**4**) dazu, dass die beiden Signale zusammenfallen. Dies äußert sich darin, dass das Multiplett bei 2.75 ppm verschwindet und mit dem Signal bei 2.55 ppm zusammenfällt. Durch Ausbildung der Enolform kommt es zum Verlust des C-2-Protons, wodurch dessen Signal bei 3.57 verschwindet. Eine Übersicht über die gesamte Spektrumsbreite ist in Kapitel 5.1.3.5 Abbildung 43 abgebildet. Die Identität des isolierten Jerangolid E (**4**) konnte durch Vergleich mit dem synthetisch hergestellten über  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie sowie HRMS-Analyse bestätigt werden. Somit konnte die erste, chemoenzymatische Totalsynthese von Jerangolid E (**4**) durch regioselektive Methylierung des Pyrandionmotivs von Projerangolid (**8**) mit JerF erfolgreich durchgeführt werden.

## 4. Zusammenfassung und Ausblick

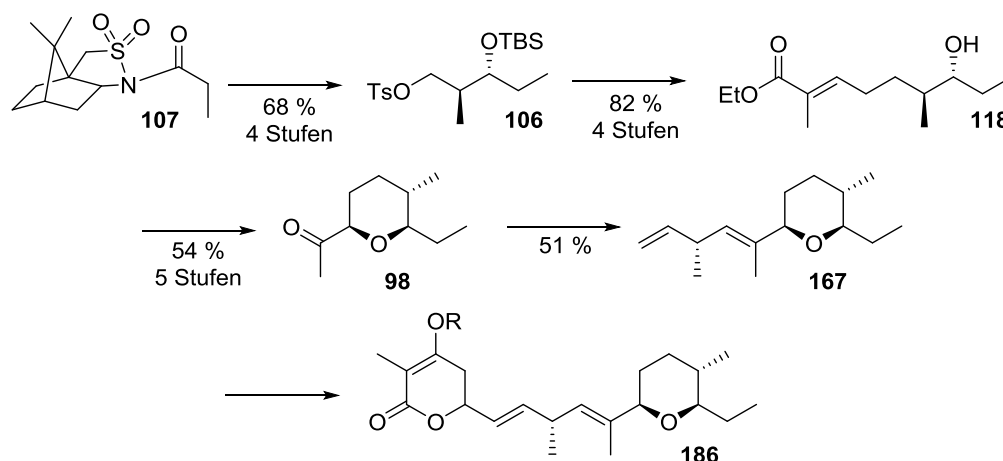
### 4.1 Synthetische Arbeiten

Es konnten unterschiedliche Jerangolid-Derivate für die Untersuchung der späten Schritte der Jerangolid-Biosynthese über eine gemeinsame, spät divergierende Route mit einer späten Derivatisierung dargestellt werden.



**Schema 76:** Übersicht über die totalsynthetisch dargestellten Verbindungen.

Es wurden erfolgreich Jerangolid E (**4**) (LLS: 15 Stufen, 15%) und Projerangolid (**8**) (LLS: 16 Stufen, 10%) totalsynthetisch dargestellt werden. Im Rahmen der Synthese konnten zudem die Derivate 5-*epi*-Projerangolid (**180**) (LLS: 16 Stufen, 9%), 5-*epi*-Jerangolid E (**176**) (LLS: 15 Stufen, 8%), sowie 9-(*Z*)-Jerangolid E (**177**) (LLS: 15 Stufen, 3%) dargestellt werden.



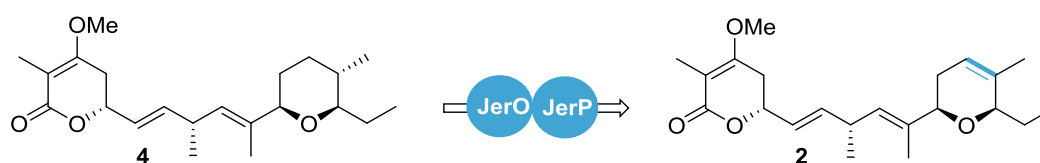
**Schema 77:** Übersicht über die allgemeine Syntheseroute zu Jerangolid-Derivaten. R = (H, Me).

Die Synthese der Jerangolid-Derivate umfasste eine selektive MUKAIYAMA-Aldolreaktion zum Aufbau der Stereokonfiguration des Tetrahydropyranrings. Anschließende Verlängerung über eine WITTIG-Olefinierung lieferte den linearen Vorläufer **118**. Dieser wurde durch eine

oxa-MICHAEL-Addition zum Pyranring cyclisiert. Eine anschließende Degradierungssequenz lieferte das Keton **98**. Das fortgeschrittene Ostfragment **167** wurde über eine JULIA-KOCIENSKI-Olefinierung aufgebaut. Das hierbei ebenfalls erhaltene (Z)-Isomer **168** konnte für die Synthese von 9-(Z)-Jerangolid **177** genutzt werden. Im finalen Schritt wurden durch eine Kreuzmetathese mit unterschiedlichen Westfragmenten die diversen Jerangolid-Derivate erhalten. Neben der Untersuchung der späten Schritte der Jerangolid-Biosynthese sollen die Verbindungen für Struktur-Aktivitätstests (*structure-activity-relationship*, SAR) genutzt werden und könnten als Leitstrukturen für die Entwicklung neuer Antimykotika dienen.

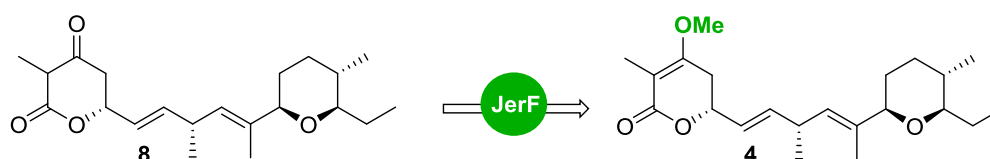
## 4.2 Enzymatische Arbeiten

In Zusammenarbeit mit A. PEIL konnte die RIESKE-Oxygenase JerP als His<sub>6</sub>-Fusionsprotein rekonstituiert und renaturiert werden, während die Monooxygenase JerO als GST-Fusionsprotein renaturiert werden konnte.



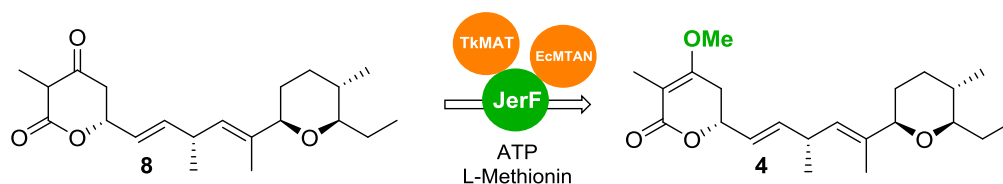
**Schema 78:** Enzymatische Umsetzung von Jerangolid E (**4**) mit GST-JerO und His<sub>6</sub>-JerP.

Enzymaktivitätstest mit den beiden renaturierten Enzymen His<sub>6</sub>-JerP und GST-JerO lieferten ein Indiz für die enzymatische Aktivität von JerP im Hinblick auf die Bildung des Dihydropyranrings der Jerangolide ausgehend von einem Tetrahydropyranring. Die Monooxygenase JerO scheint wesentlich an der enzymatischen Aktivität von JerP beteiligt zu sein. Da der GST-Tag aufgrund seiner Größe Einfluss auf die Interaktion zwischen JerO und JerP ausüben könnte, sollte für eine weitere Untersuchung der enzymatischen Reaktion in Betracht gezogen werden, den GST-Tag von JerO *in situ* abzuspalten. Eine Coexpression der beiden Enzyme könnte *in vivo* Enzymaktivitätstest ermöglichen. Des Weiteren könnten für die Expression auch andere Expressionsorganismen verwendet werden, die eine höhere Verwandtschaft mit *S. cellulosum* besitzen, um die Expression von aktiven RIESKE-Enzymen zu begünstigen.



**Schema 79:** Enzymatische Umsetzung von Projerangolid (**8**) mit JerF.

Die *O*-Methyltransferase JerF konnte erfolgreich für die Biotransformation von Projerangolid (**8**) zu Jerangolid E (**4**) genutzt werden. Dies kann als Indiz dafür angesehen werden, dass es sich bei Projerangolid (**8**) um den biosynthetischen Vorläufer der Jerangolid-Familie handelt. Es konnte zudem erste Einblicke in den zeitlichen Verlauf der Enzymreaktion von JerF gewonnen werden, wobei Projerangolid (**8**) bereits nach wenigen Minuten nahezu vollständig umgesetzt wurde. Für eine tiefergehende Untersuchung der Enzymkinetik ist eine genauere Quantifizierung von JerF notwendig. Die Quervernetzung oder Immobilisierung von JerF könnte zu einer ausreichenden Stabilisierung des Enzyms führen, um Enzymaktivitätstests mit reinem JerF durchzuführen. Dies könnte zudem als Basis für die mehrfache Nutzung als Biokatalysator dienen. Für die biokatalytische Anwendung bietet die Verwendung von zellfreiem Lysat jedoch den Vorteil, dass keine aufwendige Reinigung des Enzyms notwendig ist. Neben einer hohen Substrattoleranz von JerF konnte weiterhin eine hohe Lösungsmitteltoleranz nachgewiesen werden. Dies erweitert die möglichen Anwendungen von JerF als Biokatalysator.



**Schema 80:** Chemoenzymatische Synthese von Jerangolid E (**4**) mit JerF und einer Enzymkaskade für die Cofaktorbildung.

Um das Potential von JerF zu nutzen wurde die Etablierung einer Enzymkaskade für die Bildung des notwendigen Cofaktors SAM untersucht. Die Enzymkaskade für die Cofaktorbildung ausgehend von ATP und L-Methionin konnte erfolgreich für Biotransformationen mit JerF genutzt werden. Zudem konnte JerF zusammen mit einer Enzymkaskade für die Cofaktorbildung für die chemoenzymatische Synthese von Jerangolid E (**4**) im semipräparativen Maßstab genutzt werden. In weiterführenden Arbeiten soll die Etablierung eines cyclischen Regenerationssystems für die Biotransformationen mit JerF untersucht werden. Die Verwendung von SAM-Analoga bietet zudem einen interessanten Ansatzpunkt für eine weitere Derivatisierung der Jerangolide.

## 5. Experimenteller Teil

### 5.1 Biologische Arbeiten

#### 5.1.1 Material

Die Chemikalien für die Herstellung von Puffer, Lösungen und Kulturmedien wurden bezogen von den Firmen ABCR CHEMICALS, CARL ROTH, FISHER BIOREAGENTS, GRÜSSING, SIGMA ALDRICH und THERMOFISHER SCIENTIFIC. Verbrauchsmaterialien aus Kunststoff wurden in der Regel von den Firmen MACHEREY-NAGEL, MERCK oder SARSTEDT bezogen.

##### 5.1.1.1 Organismen

*E. coli* BL21<sup>TM</sup>(DE3), Tuner<sup>TM</sup>(DE3) sowie Origami B<sup>TM</sup>(DE3) Zellen wurden von NOVAGEN<sup>TM</sup>, One Shot<sup>TM</sup> TOP10 und Star<sup>TM</sup>(DE3) Zellen von INVITROGEN<sup>TM</sup>, SoluBL21<sup>TM</sup>(DE3) Zellen von AMSBIO bezogen.

**Tabelle 13:** Verwendete Organismen.

<i>E. coli</i> -Stamm	Genotyp
BL21 <sup>TM</sup> (DE3)	<i>F<sup>-</sup> ompT hsdSB(r<sub>B</sub><sup>-</sup> m<sub>B</sub><sup>-</sup>) gal dcm (DE3)</i>
Tuner <sup>TM</sup> (DE3)	<i>F<sup>-</sup> ompT hsdS<sub>B</sub> (r<sub>B</sub><sup>-</sup> m<sub>B</sub><sup>-</sup>) gal dcm lacY1(DE3)</i>
One Shot <sup>TM</sup> TOP10	<i>F<sup>-</sup> mcrA Δ(mrr<sup>-</sup> hsdRMS<sup>-</sup> mcrBC) Φ80lacZΔM15 Δ lacX74 recA1 araD139 Δ(araleu)7697 galU galK rpsL (Str<sup>R</sup>) endA1 nupG</i>
Origami <sup>TM</sup> B(DE3)	<i>F<sup>-</sup> ompT hsdS<sub>B</sub>(r<sub>B</sub><sup>-</sup> m<sub>B</sub><sup>-</sup>) gal dcm lacY1 ahpC gor522:: Tn10 trxB (Kan<sup>R</sup>, Tet<sup>R</sup>)</i>
Star <sup>TM</sup> (DE3)	<i>F<sup>-</sup> ompT hsdS<sub>B</sub> (r<sub>B</sub><sup>-</sup>, m<sub>B</sub><sup>-</sup>) gal dcmrne131 (DE3)</i>
SoluBL21 <sup>TM</sup> (DE3)	<i>F<sup>-</sup> ompT hsdS<sub>B</sub> (r<sub>B</sub><sup>-</sup> m<sub>B</sub><sup>-</sup>) gal dcm (DE3)</i>

### 5.1.1.2 Plasmide

**Tabelle 14:** Verwendete Plasmide.

Plasmidname	Selektionsmarker	Referenz
pET32a(+)_ <i>jerP</i>	Amp	A. PEIL <sup>133</sup>
pET28a(+)_ <i>jerP</i>	Kan	A. PEIL <sup>133</sup>
pET28a(+)_ <i>TkMAT</i>	Kan	J. N. ANDEXER <sup>79</sup>
pET28a(+)_ <i>EcMAT</i>	Kan	J. N. ANDEXER <sup>79</sup>
pET28a(+)_ <i>MjMAT</i>	Kan	J. N. ANDEXER
pET28a(+)_ <i>EcMTAN</i>	Kan	J. N. ANDEXER <sup>79</sup>
pGEX-6P-I_ <i>jerO</i>	Amp	A. PEIL <sup>133</sup>
pCOLD-I_ <i>jerP</i>	Amp	A. PEIL <sup>133</sup>
pCOLD-I_ <i>jerL</i>	Amp	A. PEIL <sup>133</sup>
pCOLD-I_ <i>jerF</i>	Amp	S. FRIEDRICH <sup>143</sup>

<sup>143</sup> S. Friedrich, *Dissertation: Untersuchungen zur Biosynthese von Polyketiden - Studien zur in-vitro-Aktivität der Tailoring-Enzyme aus der Jerangolid-Biosynthese*, Leibniz Universität Hannover, **2015**.

### 5.1.1.3 Kulturmedien und Nährböden

Alle Medien, Nährböden, Puffer und Lösungen wurden vor Gebrauch autoklaviert (121 °C, 1 bar Überdruck, 20 min) oder sterilfiltriert (0.2 µm).

**Tabelle 15:** Verwendete Medien und Nährböden zur Kultivierung von *E. coli*.

Bezeichnung	Zusammensetzung
2TY-Medium	16 g/L Trypton
	10 g/L Hefeextrakt
	5 g/L NaCl
SOC-Medium	20 g/L Trypton
	5 g/L Hefeextrakt
	10 g/L Glucose
	10 mM NaCl
	2.5 mM KCl
	25 mM MgCl <sub>2</sub>
	pH 7.0
2TY-Agar	16 g/L Trypton
	10 g/L Hefeextrakt
	5 g/L NaCl
	16 g/L Agar

### 5.1.1.4 Puffer und Lösungen

**Tabelle 16:** Verwendete Puffer und Lösungen.

Bezeichnung/ Verwendungszweck	Zusammensetzung
<b><i>Inclusion bodies</i> Präparation</b>	
Lysepuffer I	50 mM Tris, 100 mM NaCl, 5 mM EDTA, 0.1% NaN <sub>3</sub> , 0.5% Triton-X100, 0.1 mM PMSF, 1 mM DTT, pH 8.5
Waschpuffer I	50 mM Tris, 100 mM NaCl, 5 mM EDTA, 0.1 mM PMSF, 1 mM DTT, pH 8.5
Denaturierungspuffer	50 mM Tris, 8 M Harnstoff, pH 8.5
DTT-Stammlösung	1 M DTT in ddH <sub>2</sub> O
PMSF-Stammlösung	1 M PMSF in <i>iso</i> -Propanol
<b>Rekonstitution und Rückfaltung</b>	
Dialysepuffer	50 mM Tris, pH 8.5
Rekonstitutionslösung	50 mM Tris, 0.7 mM Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , 0.14 mM DTT
Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> -Stammlösung	10 mM Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> in Dialysepuffer
Na <sub>2</sub> S-Stammlösung	20 mM Na <sub>2</sub> S in Dialysepuffer
<b>SDS-PAGE</b>	
Trenngel (12%)	40% (v/v) Acrylamid-Bisacrylamidlösung 19:1 (30%), 390 mM Tris (pH 8.8), 0.1% (w/v) SDS, 0.04% (v/v) TEMED, 0.1% (w/v) APS
Sammelgel (5%)	17% (v/v) Acrylamid-Bisacrylamidlösung 19:1 (30%), 62.5 mM Tris/HCl (pH 6.8), 0.1% (w/v)



---

	SDS, 0.1% (v/v) TEMED, 0.1% (w/v) APS
SDS-Probenpuffer (4x)	20 mM DTT, 200 mM Tris/HCl, 20% (w/v) Glycerin, 8% (w/v) SDS, 0.8% (w/v) Coomassie Blure R-250
Fixierlösung	50% (v/v) Ethanol, 10% (v/v) Essigsäure (100%ig)
Färbelösung	5% (v/v) Ethanol, 7.5% (v/v) Essigsäure (100%ig)
Coomassielösung	7.75 mM Coomassie Blue R-250

**Nickelchelate-Affinitätschromatographie**

Lysepuffer II	40 mM Tris, 100 mM NaCl, pH 8.0
Waschpuffer II	30 mM Tris/HCl, 500 mM NaCl, 10 mM Imidazol, 10% (v/v) Glycerin
Elutionspuffer	30 mM Tris/HCl, 500 mM NaCl, 500 mM Imidazol, 10% (v/v) Glycerin

**Antibiotika-Stammlösungen**

Ampicillin	50 mg/mL Ampicillin-Natriumsalz in ddH <sub>2</sub> O
Kanamycin	60.1 mg/mL Kanamycin-Monosulfat in ddH <sub>2</sub> O

---

### 5.1.1.5 Geräte

**Tabelle 17:** Verwendete Geräte.

Gerät	Hersteller
Absorption- und Fluoreszenz Mikroplattenlesegerät Varioskan™ LUX	THERMOFISHER SCIENTIFIC
Chromatographiesystem ÄKTA Pure mit UV-Detektor U9-L und Leitfähigkeitsdetektor C9	GE HEALTHCARE
Chromatographiesystem WATERS ACQUITY™ UPLC® mit einem Single Quadrupole Massenspektrometer	WATERS
Elektrophoresespannungsquelle peqPOWER 300	PEQLAB
Inkubationsschüttler MaxQ 6000	THERMOFISHER SCIENTIFIC
Mikrozentrifuge Micro Star 17 R	VWR®
Minizentrifuge SPROUT	HEATHROW SCIENTIFIC
pH-Meter Lab 855	SI ANALYTICS
Sicherheitswerkbank MSC Advantage 1.8	THERMOFISHER SCIENTIFIC
Standautoklav VX-65	SYSTEC
Sterilfiltrationsanlage Millipore® XX1504700	MERCK
ThermoMixer® C und ThermoMixer® Comfort	EPPENDORF
Ultraschallbad SONOREX RK 106	BANDELIN
Ultraschall-Homogenisator HD 3100 SONOPULS mit Lärmschutzbox LS 8	BANDELIN
Vakuumkonzentrator Concentrator plus	EPPENDORF
Vertikales Elektrophoresesystem PerfectBlue™ Doppel-Gelsystem Twin M	PEQLAB
Wippschüttler RK-1D	WITEG
Zentrifuge Centrifuge 5804 R	EPPENDORF

## 5.1.2 Methoden

### 5.1.2.1 Stammhaltung

Für die Stammhaltung wurden Cryokulturen mit 500 µL Bakterienkultur und 500 µL Glycerin (50% in ddH<sub>2</sub>O) erstellt und bei -80 °C gelagert.

### 5.1.2.2 Transformation chemisch kompetenter Zellen

Die Transformation von chemisch kompetenten Zellen mit Plasmid-DNA wurde mit 1 µL Plasmid-DNA und 50 µL kompetenter Zellen durchgeführt. Die Mischung wurde 10-20 min auf Eis inkubiert und die Transformation durch Hitzeschock bei 42 °C für 60 s induziert. Anschließend wurde für 5 min auf Eis inkubiert, bevor die Proben mit 500 µL SOC-Medium versetzt und für 1 h bei 37 °C inkubiert wurden. Nach Zentrifugation für 30 s bei 5000 g wurde der Überstand verworfen und der Rückstand vorsichtig resuspendiert. Die Zellsuspension wurde auf 2TY-Agarplatten mit Antibiotikazusatz ausplattiert und bei 37 °C über Nacht inkubiert.

### 5.1.2.3 Kultivierung für die heterologe Genexpression

Die heterologe Expression der Proteine JerF, JerO, JerP, *MjMAT*, *TkMAT*, *EcMAT* und *EcMTAN* erfolgte mit den beschriebenen Plasmiden in *E. coli* BL21 (DE3). Es wurde zunächst ausgehend von einer Cryokultur oder mit einer Einzelkolonie von einer Agarplatte eine Vorkultur (5-30 mL 2TY-Medium mit Antibiotikazusatz) inokuliert. Die Vorkultur wurde bei 37 °C und 180 rpm über Nacht inkubiert. Mit der Vorkultur wurden anschließend Hauptkulturen (2TY-Medium mit 50 µg/mL Antibiotikum) auf eine OD<sub>600</sub> von 0.05 angeimpft und diese bei 37 °C und 180 rpm bis zu einer OD<sub>600</sub> von 0.6-0.8 inkubiert. Die Induktion der Genexpression von *MjMAT*, *TkMAT*, *EcMAT* und *EcMTAN* erfolgte durch Zugabe von 0.2 mM IPTG und die Expression erfolgte bei 37 °C für 4 h. Die Expression von GST-JerO wurde durch Zugabe von 1 mM IPTG induziert und erfolgte bei 20 °C über Nacht. Die Expression von His<sub>6</sub>-JerP wurde ebenfalls mit 1 mM IPTG induziert und erfolgte bei 15 °C über Nacht. Für die heterologe Expression von JerF wurden 0.1 mM IPTG verwendet und die Expression erfolgte bei 15 °C über Nacht. Die Zellernte erfolgte im Anschluss an die Expression durch Zentrifugation für 30 min bei 3200 g und 4 °C. Das Zellpellet wurde bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C gelagert.

### 5.1.2.4 Inclusion bodies Präparation

Für die Präparation der *Inclusion bodies* von JerO und JerP wurde das entsprechende Zellpellet in Lysepuffer I (1 mL/0.1 g Zellen) resuspendiert. DTT (1 mM) und PMSF

(0.1 mM) wurden jeweils frisch zum Puffer zugegeben. Der Zellaufschluss erfolgte mittels Ultraschall (zehn Zyklen aus 30 s Puls und 30 s Pause, Amplitude 40%) bei 4 °C. Im Anschluss wurde für 15 min bei 10000 g und 4 °C zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet zweimal mit Waschpuffer I gewaschen. Anschließend erfolgte die Denaturierung durch Resuspendierung des Zellpellets in Denaturierungspuffer (10 mL) und Inkubation bei Raumtemperatur für min. 1 h. Zur Abtrennung von unlöslichen Bestandteilen wurde für 30 min bei 10000 g und 4 °C zentrifugiert und der Überstand anschließend bis zu weiteren Verwendung bei -80 °C gelagert.

#### 5.1.2.5 Rekonstitution der RIESKE-[2Fe-2S]-Cluster

Für die Rekonstitution des [2Fe-2S]-Clusters der RIESKE-Oxygenase JerP wurden alle verwendeten Puffer entgast, indem für 1 h Argon durch die Lösung geleitet wurde. Die Rekonstitution wurde unter Schutzgasatmosphäre mit der denaturierten Proteinlösung (2 mL) durchgeführt und während allen Schritten wurde weiter Argon durch die Lösung geleitet. Zunächst wurde die Proteinlösung mit Denaturierungspuffer (8 mL mit 2 mM DTT) verdünnt und nach 10 min wurden langsam Natriumsulfidlösung (0.3 mL, 20 mM Na<sub>2</sub>S mit 2 mM DTT) zugetropft und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die Rekonstitutionslösung (3 mL, 0.7 mM Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> mit 0.14 mM DTT) wurde langsam tropfenweise zugegeben und für weitere 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Für die Rückfaltung wurde die dunkelrotbraune Lösung in einen Dialyseschlauch (14 kDa) überführt und gegen das ~200fache Volumen an Dialysepuffer bei 4 °C unter Rühren dialysiert.

#### 5.1.2.6 Rückfaltung Monooxygenase JerO

Für die Rückfaltung der Monooxygenase JerO wurde die denaturierte Proteinlösung (2 mL) mit Denaturierungspuffer (8 mL) verdünnt und mit Dialysepuffer (5 mL) gemischt. Nach Überführen der Lösung in einen Dialyseschlauch wurde gegen das ~200fache Volumen an Dialysepuffer bei 4 °C unter Rühren dialysiert.

#### 5.1.2.7 Proteinreinigung

Für die Reinigung von *Mj*MAT, *Tk*MAT, *Ec*MAT und *Ec*MTAN wurde ein entsprechendes Zellpellet in Lysepuffer II (1 mL/0.1 g Zellen) resuspendiert. Der Zellaufschluss erfolgte mittels Ultraschall (10 min, 30 s Puls und 30 s Pause, Amplitude 40%) bei 4 °C. Im Anschluss wurde für 30 min bei 10000 g und 4 °C zentrifugiert und der Überstand sterilfiltriert (0.45 µm). Die Reinigung des Überstandes erfolgte über eine Nickelaffinitätschromatographie mit einer HisTrap<sup>TM</sup> FF Ni-NTA Säule (5 mL CV) der Firma GE HEALTHCARE in Kombination mit einem *Fast Protein Liquid Chromatography* (FPLC) ÄKTA PURE System

(GE HEALTHCARE). Unspezifisch gebundene Proteine wurden über einen Waschschrift mit Waschpuffer II bei einer Flussrate von 5 mL/min entfernt. Bei Unterschreiten des Absorptionswertes von 50 mAU erfolgte die Elution mit einem Gradienten von 0 bis 100% Elutionspuffer in 5 CV bei einer Flussrate von 5 mL/min gefolgt von einem Plateauzustand mit einer Länge von 5 CV bei 100% Elutionspuffer. Es wurde in 1 mL Schritten fraktioniert. Die Analyse der Fraktionen erfolgte via SDS-PAGE. Protein enthaltende Fraktionen wurden vereinigt und entsprechend der Herstellerangaben über eine PD-10-Säule (GE HEALTHCARE) in den jeweiligen Puffer für die Enzymaktivitätstests umgepuffert.

#### **5.1.2.8 SDS-PAGE**

Die Analyse von Proteinlösungen erfolgte über eine denaturierende SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese. Hierbei wurden 5%ige Sammelgele und 12%ige Trenngele verwendet. Die Proben wurden mit SDS-Probenpuffer versetzt und bei 95 °C für 10 min inkubiert. Die Gelelektrophorese erfolgte bei 125 V für 10 min und 175 V für 1.5 h. Als Größenstandard wurden 5 µL Page Ruler™ Prestained Protein Ladder der Firma THERMOSCIENTIFIC verwendet. Im Anschluss wurden die Gele mit Fixierlösung für 30 s in der Mikrowelle erhitzt und für 5 min inkubiert. Anschließend wurden die Gele mit 50 ml Färbelösung und 200 µL Coomassielösung für 20-30 min inkubiert und schließlich in ddH<sub>2</sub>O über Nacht entfärbt.

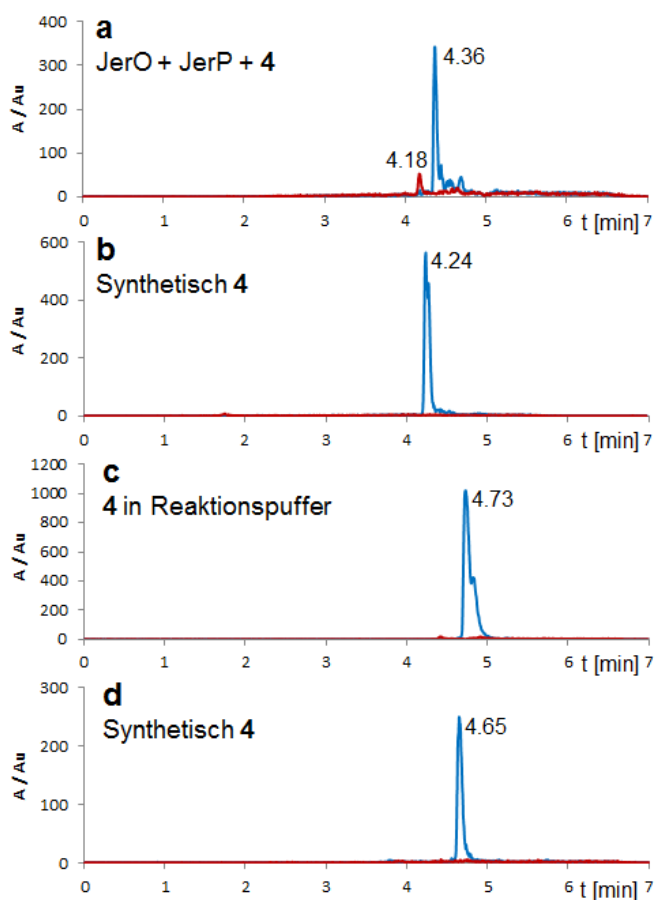
#### **5.1.2.9 Proteinkonzentrationsbestimmung**

Die Proteinkonzentration wurde photometrisch über einen Bradford-Test bestimmt. Hierzu wurden 5 µL einer Probe mit 250 µL Bradfordreagenz (SIGMA-ALDRICH) versetzt und für 10 min bei 25 °C im Dunkeln inkubiert. Die Absorptionsmessung wurde bei 595 nm mit einem Mikroplattenlesegerät der Firma THERMOFISHER SCIENTIFIC durchgeführt. Die Proteinkonzentration wurde anschließend über eine Kalibrationsgerade basierend auf festgelegten Konzentrationen von Rinderserumalbumin (BSA) bestimmt.

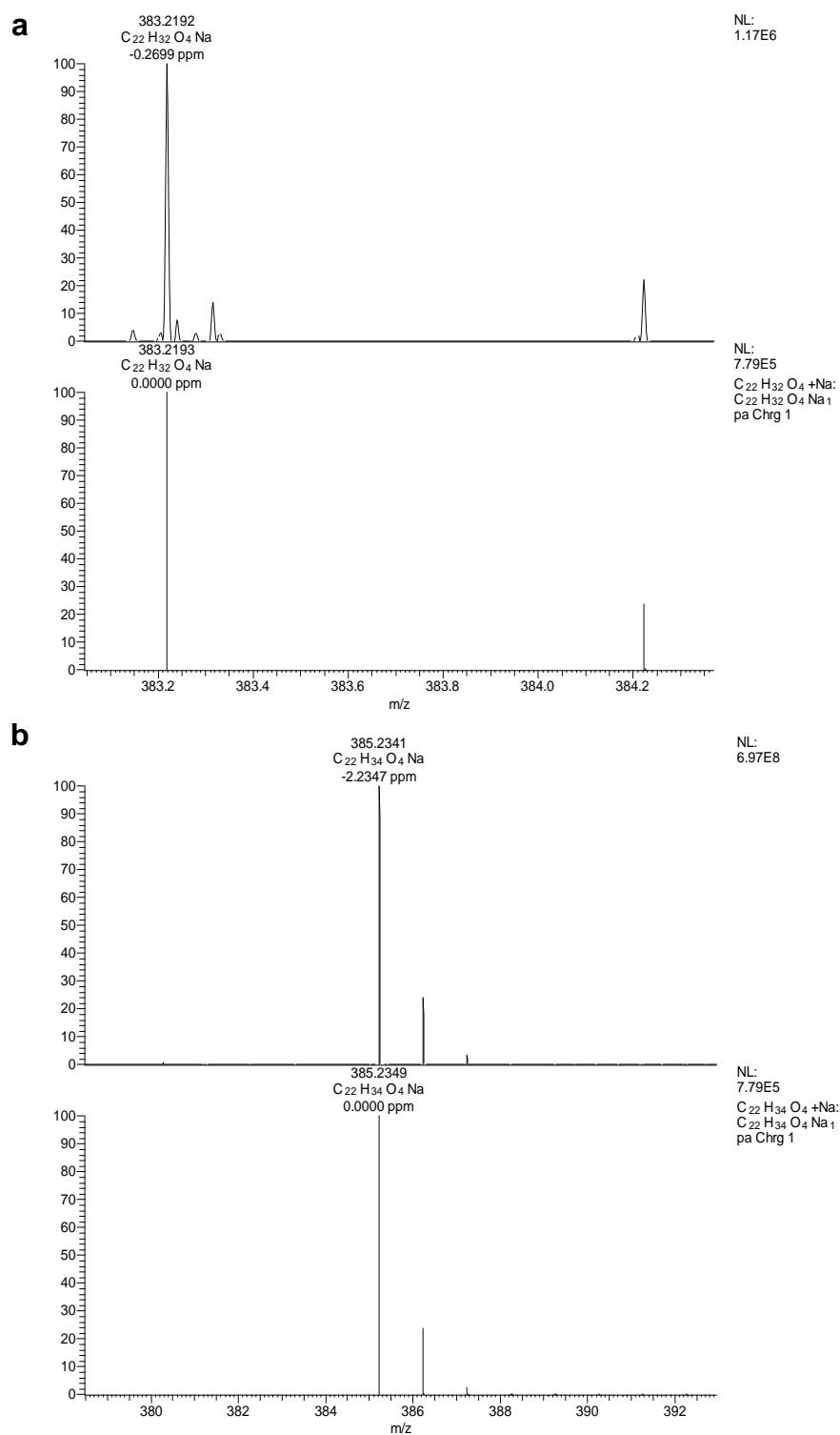
### 5.1.3 *In vitro* Enzymaktivitätstests

#### 5.1.3.1 Enzymaktivitätstest mit His<sub>6</sub>-JerP und GST-JerO

Für den Enzymaktivitätstest von His<sub>6</sub>-JerP und GST-JerO wurden 66.5  $\mu$ M GST-JerO, 30.5  $\mu$ M His<sub>6</sub>-JerP, 0.25 mM Jerangolid E (**4**), 0.50 mM FAD, 2.50 mM NADPH in einem Gesamtvolumen von 206  $\mu$ L (50 mM Tris/HCl, pH 8.5) bei 25 °C und 300 rpm für 16 h inkubiert. Anschließend wurden 100  $\mu$ L ges. NaCl-Lösung zugegeben und zweimal mit 200  $\mu$ L EtOAc extrahiert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in MeOH aufgenommen und mittels UPLC-MS und HRMS analysiert.



**Abbildung 28:** Unprozessierte Daten der UPLC-MS Analyse des Enzymaktivitätstest von His<sub>6</sub>-JerP zusammen mit GST-JerO: **a)** Reaktionspuffer (50 mM Tris/HCl, pH 8.5) mit 66.5  $\mu$ M GST-JerO, 30.5  $\mu$ M His<sub>6</sub>-JerP, 0.25 mM Jerangolid E (**4**), 0.5 mM FAD, 2.5 mM NADPH, 25 °C, 16 h; **b)** Synthetisches Jerangolid E (**4**); **c)** Reaktionspuffer (50 mM Tris/HCl, pH 8.5) mit 0.25 mM Jerangolid E (**4**), 30 °C, 7 h; **d)** Synthetisches Jerangolid E (**4**). Die Analysen **a/b** und **c/d** wurden auf zwei unterschiedlichen Chromatographiesäulen des Typen ACQUITY UPLC<sup>®</sup> HSS C18 (Partikelgröße 1.8  $\mu$ m) vermessen.  $m/z$  385 (blau, **4**) und  $m/z$  383 (rot, **2**).



**Abbildung 29:** HRMS Analyse für Enzymaktivitätstest von His<sub>6</sub>-JerP zusammen mit GST-JerO:

**a)** HRMS-Chromatogramm mit  $t_R = 12.71$  min ; **b)** HRMS-Chromatogramm mit  $t_R = 13.04$  min

**HRMS [ESI]  $m/z$  für C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>:** ber. 383.2193 gef. 383.2192.

**HRMS [ESI]  $m/z$  für C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>:** ber. 385.2349 gef. 385.2341.

### 5.1.3.2 Biotransformationen mit JerF im analytischen Maßstab

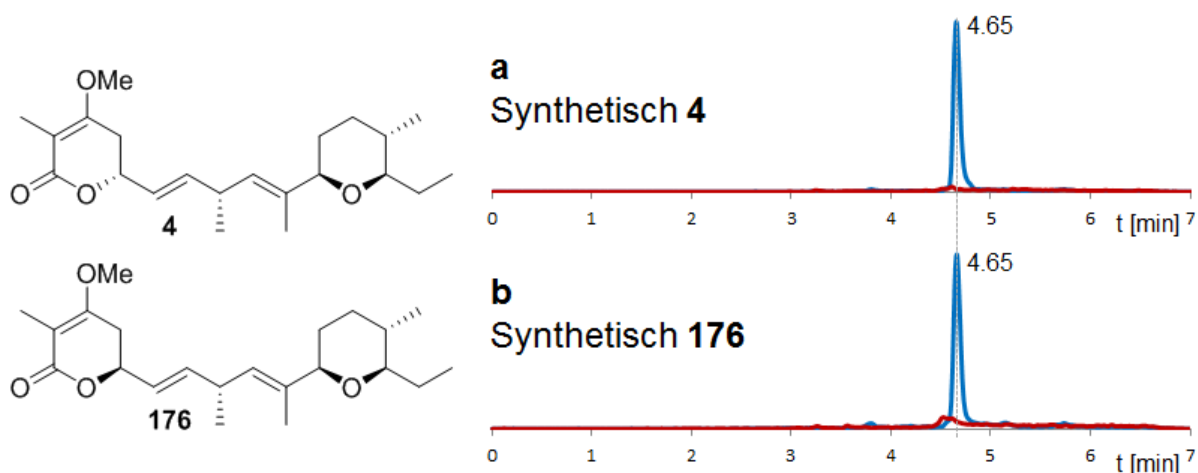
Für die Biotransformationen mit JerF wurde ein Zellpellet in Reaktionspuffer (1 mL/0.1 g Zellen) suspendiert und mittels Ultraschall (7-10 min, 30 s Puls und 30 s Pause, Amplitude 40%) bei 4 °C aufgeschlossen. Es wurde bei 10000 g und 4 °C für 30-45 min zentrifugiert und das zellfreie Lysat wurde für die Enzymaktivitätstests benutzt. Die Enzymaktivitätstests wurden in 200 µL Reaktionspuffer mit JerF (1.0-1.9 mg/mL Gesamtproteinkonzentration), 0.25-2.5 mM Substrat, 1.0-2.9 mM SAM-Tosylat über Nacht bei 28-30 °C durchgeführt. Anschließend wurden 100 µL ges. NaCl-Lösung zugegeben und zweimal mit 200 µL EtOAc extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in MeOH aufgenommen und mittels UPLC-MS analysiert.

Für die Biotransformationen mit JerF und einer *in vitro* Cofaktorbildung aus ATP und Methionin wurde anstelle von SAM-Tosylat ATP zusammen mit Methionin zugegeben. Zusätzlich zum Lysat wurden *Mj*MAT, *Tk*MAT, *Ec*MAT und *Ec*MTAN als gereinigte His<sub>6</sub>-Fusionsproteine zugegeben.

**Tabelle 18:** Verwendete Reaktionspuffer für die Biotransformation mit JerF.

Reaktionspuffer	Zusammensetzung
1	25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl <sub>2</sub> , pH 7.5
2	100 mM HEPES, 200 mM KCl, 20 mM MgCl <sub>2</sub> , pH 7.8
3	30 mM HEPES, 100 mM KCl, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl <sub>2</sub> , pH 7.6

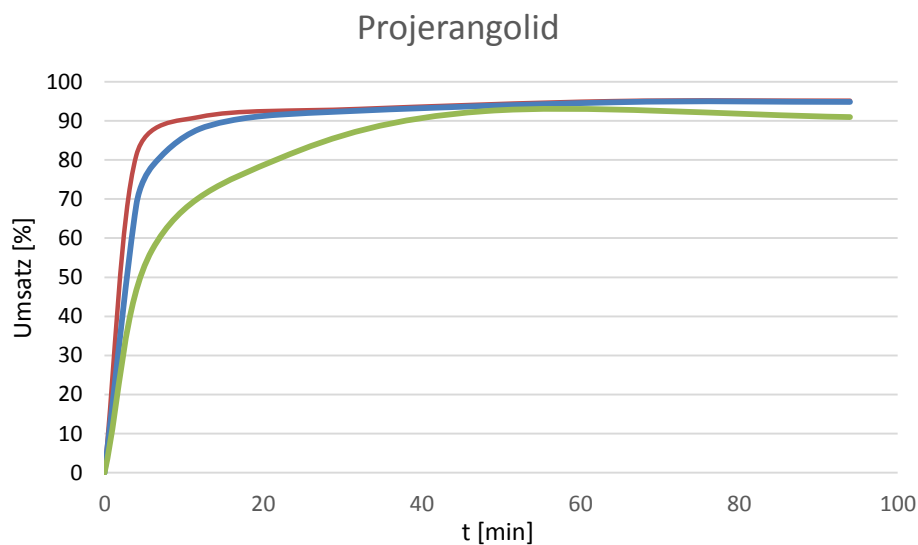




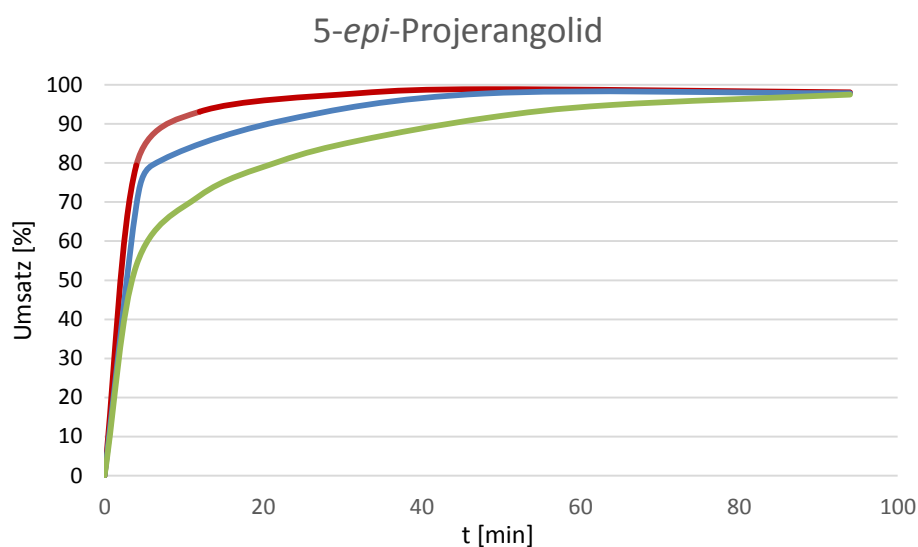
**Abbildung 30:** UPLC-MS-Analyse von Jerangolid E (4) und 5-*epi*-Jerangolid E (176): a) Synthetisches Jerangolid E (4); b) Synthetisches 5-*epi*-Jerangolid E (176); MS-Chromatogramme für  $m/z$  385 (blau) und  $m/z$  371 (rot)

### 5.1.3.3 Untersuchung des zeitlichen Verlaufs der Enzymreaktion von JerF

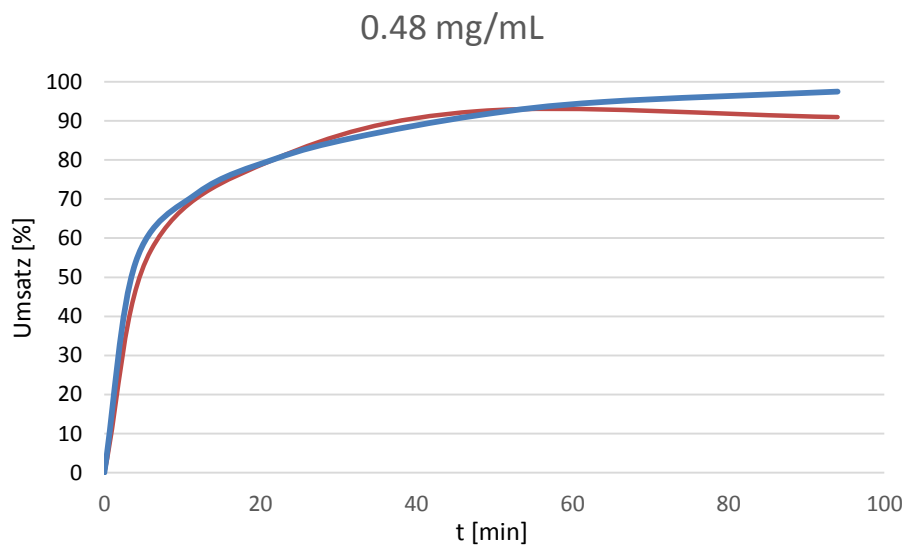
Für die Experimente zum zeitlichen Verlauf der Enzymreaktion von JerF wurden die Enzymaktivitätstests in 200  $\mu$ L Reaktionspuffer (25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM  $\text{MgCl}_2$ , pH 7.5) mit unterschiedlichen Konzentrationen an JerF (1.90, 0.95 und 0.48 mg/mL Gesamtproteinkonzentration), 0.25 mM Substrat, 1.0 mM SAM-Tosylat als Methyl donor und 0.5% DMSO als Cosolvents durchgeführt. Die Enzymaktivitätstests wurden bei 28 °C für unterschiedliche Zeitspannen inkubiert, bevor 100  $\mu$ L ges. NaCl-Lösung zugegeben wurden. Es wurde zweimal mit 200  $\mu$ L EtOAc extrahiert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck aus den vereinigten Extrakten entfernt. Der Rückstand wurde in MeOH aufgenommen und via UPLC-MS analysiert. Unter Berücksichtigung der notwendigen Zeit für die Probenvorbereitung wurden Datenpunkte nach 2, 6, 12, 22, 32, 48, 64 und 94 Minuten genommen (Doppelbestimmung, siehe Abbildung 34 - Abbildung 39).



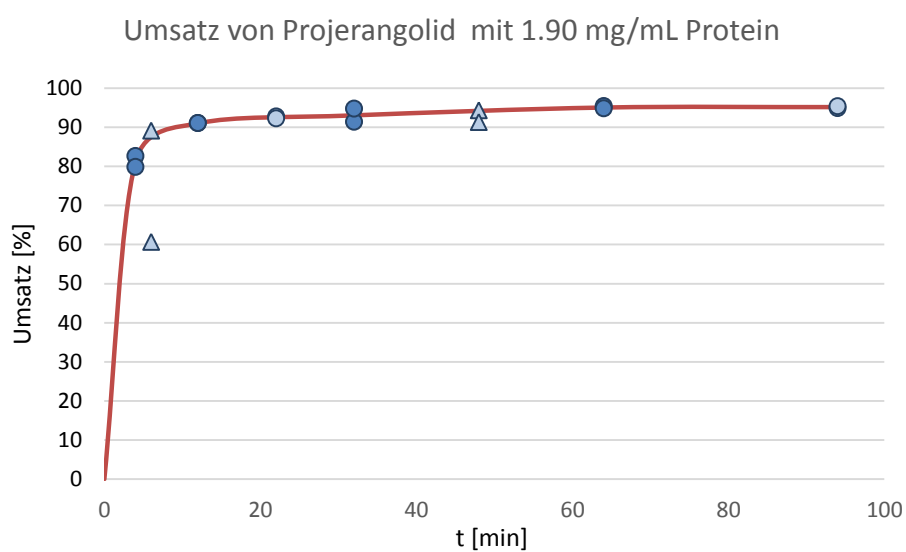
**Abbildung 31:** Zeitlicher Verlauf der Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF: rot = Umsatz zu Jerangolid E (**4**) mit 1.90 mg/mL Gesamtproteinkonzentration; blau = Umsatz zu Jerangolid E (**4**) mit 0.95 mg/mL Gesamtproteinkonzentration; grün = Umsatz zu Jerangolid E mit 0.48 mg/mL Gesamtproteinkonzentration.



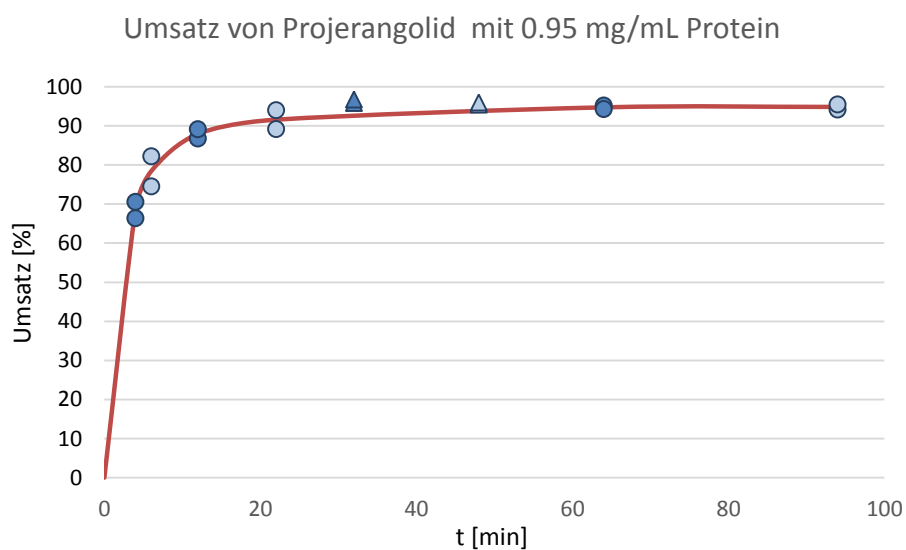
**Abbildung 32:** Zeitlicher Verlauf der Biotransformation von 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit JerF: rot = Umsatz zu 5-*epi*-Jerangolid E (**176**) mit 1.90 mg/mL Gesamtproteinkonzentration; blau = Umsatz zu 5-*epi*-Jerangolid E (**176**) mit 0.95 mg/mL Gesamtproteinkonzentration; grün = Umsatz zu 5-*epi*-Jerangolid E (**176**) mit 0.48 mg/mL Gesamtproteinkonzentration.



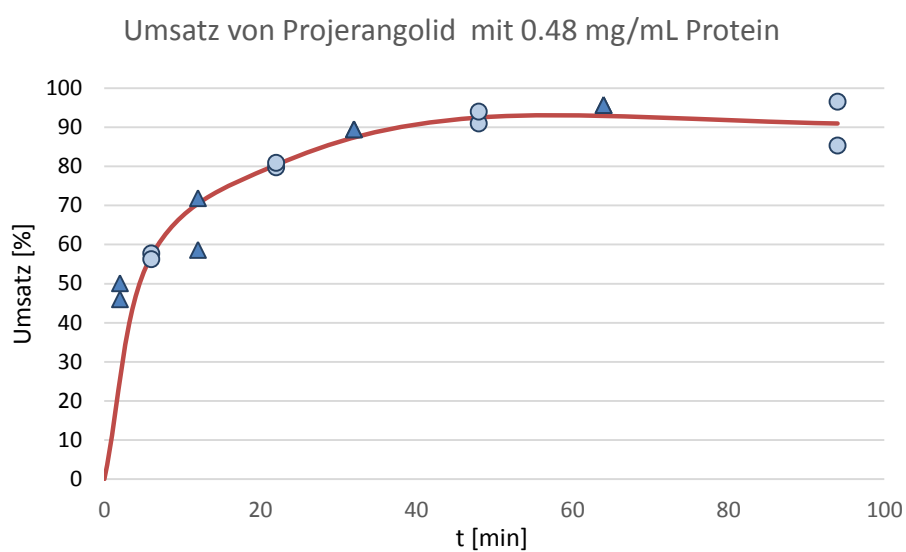
**Abbildung 33:** Vergleich des zeitlichen Verlaufs der Biotransformation von Projerangolid (**8**) und 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit 0.48 mg/mL Gesamtproteinkonzentration: rot = Projerangolid (**8**); blau = 5-*epi*-Projerangolid (**180**).



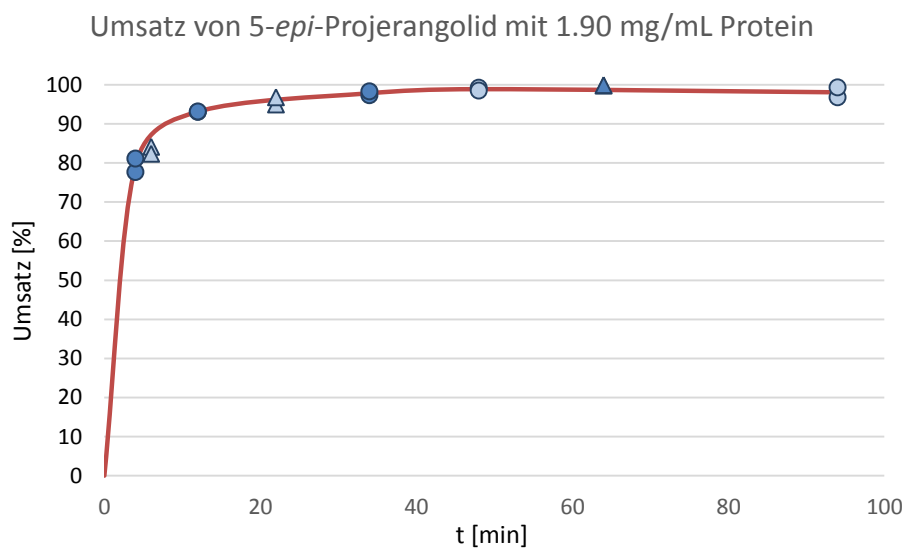
**Abbildung 34:** Zeitlicher Verlauf der Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF (1.90 mg/mL Gesamtproteinkonzentration): blau = Umsatz zu Jerangolid E (**4**); rot = Mittelwertkurve mit Messfehlerkorrektur, ▲ = Ausreißer, wurde nicht für die Mittelwertkurve berücksichtigt.



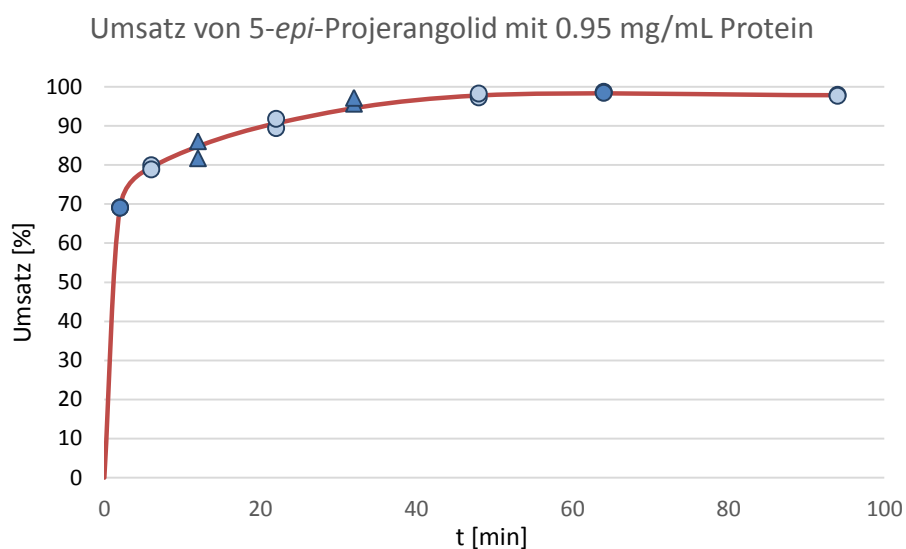
**Abbildung 35:** Zeitlicher Verlauf der Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF (0.95 mg/mL Gesamtproteinkonzentration): blau = Umsatz zu Jerangolid E (**4**); rot = Mittelwertkurve mit Messfehlerkorrektur, ▲ = Ausreißer, wurde nicht für die Mittelwertkurve berücksichtigt.



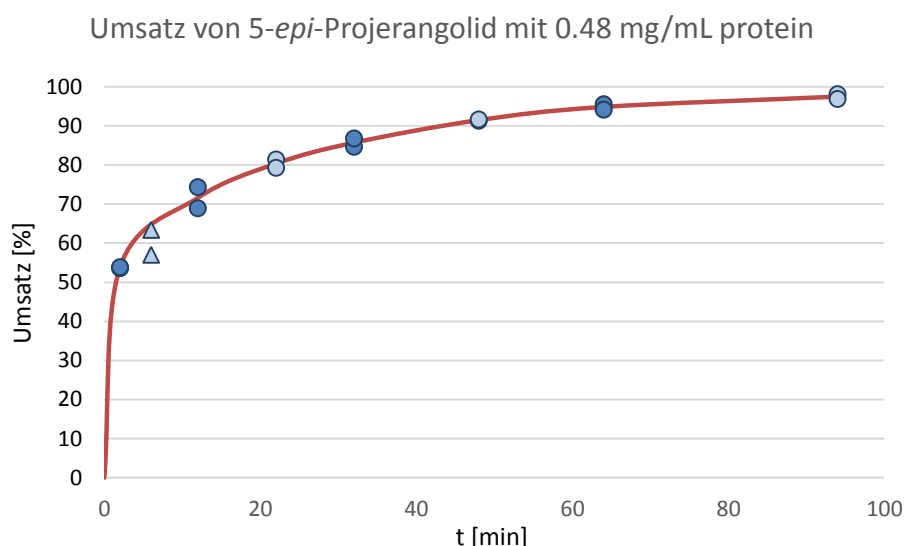
**Abbildung 36:** Zeitlicher Verlauf der Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF (0.48 mg/mL Gesamtproteinkonzentration): blau = Umsatz zu Jerangolid E (**4**); rot = Mittelwertkurve mit Messfehlerkorrektur, ▲ = Ausreißer, wurde nicht für die Mittelwertkurve berücksichtigt.



**Abbildung 37:** Zeitlicher Verlauf der Biotransformation von 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit JerF (1.90 mg/mL Gesamtproteinkonzentration): blau = Umsatz zu 5-*epi*-Jerangolid E (**176**); rot = Mittelwertkurve mit Messfehlerkorrektur, ▲ = Ausreißer, wurde nicht für die Mittelwertkurve berücksichtigt.



**Abbildung 38:** Zeitlicher Verlauf der Biotransformation von 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit JerF (0.95 mg/mL Gesamtproteinkonzentration): blau = Umsatz zu 5-*epi*-Jerangolid E (**176**); rot = Mittelwertkurve mit Messfehlerkorrektur, ▲ = Ausreißer, wurde nicht für die Mittelwertkurve berücksichtigt.



**Abbildung 39:** Zeitlicher Verlauf der Biotransformation von 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit JerF (0.48 mg/mL Gesamtproteinkonzentration): blau = Umsatz zu 5-*epi*-Jerangolid E (**176**); rot = Mittelwertkurve mit Messfehlerkorrektur, ▲ = Ausreißer, wurde nicht für die Mittelwertkurve berücksichtigt.

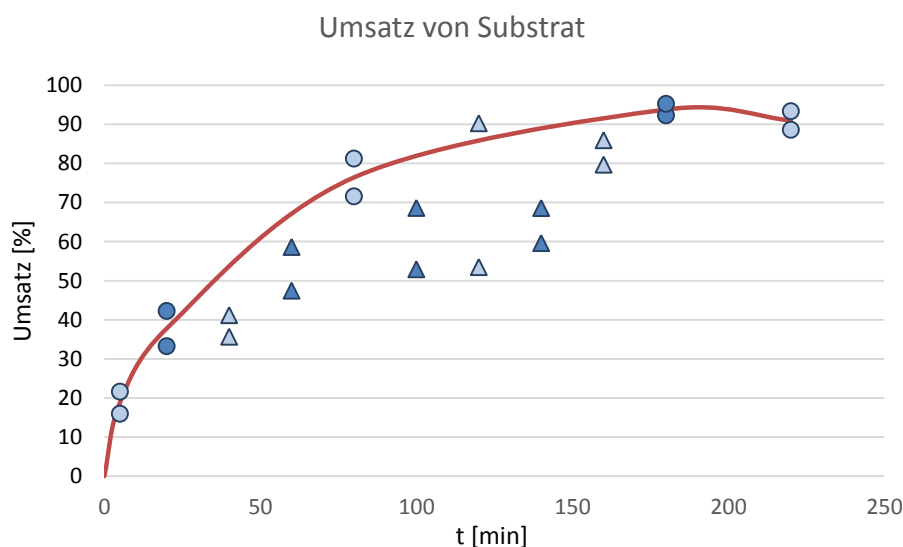
**Tabelle 19:** Umsätze von Projerangolid (**8**) mit JerF.

Zeit [min]	1.90 mg/mL Gesamtprotein		0.95 mg/mL Gesamtprotein		0.48 mg/mL Gesamtprotein	
	1 [%]	2 [%]	1 [%]	2 [%]	1 [%]	2 [%]
4	82.58	79.78	66.42	70.53	46.01	50.11
6	60.70	89.16	74.53	82.26	57.70	56.30
12	91.00	91.03	86.79	89.13	58.64	71.88
22	92.80	92.29	89.18	94.01	79.75	80.94
32	91.39	94.72	95.86	96.77	89.53	89.48
48	94.37	91.36	95.45	95.99	91.01	94.00
64	95.36	94.77	95.18	94.31	95.71	95.71
94	94.90	95.45	94.19	95.52	85.36	96.59

**Tabelle 20:** Umsätze von 5-*epi*-Projerangolid (**180**) mit JerF.

Zeit [min]	1.90 mg/mL Gesamtprotein		0.95 mg/mL Gesamtprotein		0.48 mg/mL Gesamtprotein	
	1 [%]	2 [%]	1 [%]	2 [%]	1 [%]	2 [%]
4	77.71	81.10	69.09	69.00	53.63	53.89
6	84.15	82.36	79.94	78.90	63.40	57.03
12	93.08	93.18	86.08	81.73	68.92	74.30
22	94.97	96.81	89.48	91.81	81.40	79.31
32	97.37	98.32	95.68	97.19	84.63	86.79
48	99.27	98.50	97.28	98.28	91.31	91.64
64	99.79	99.93	98.66	98.39	95.53	94.18
94	96.84	99.32	98.00	97.71	98.09	96.90

Für die Umsetzung von Substrat **184** mit JerF wurden die Datenpunkte nach 5, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 und 220 Minuten genommen (Doppelbestimmung).



**Abbildung 40:** Zeitlicher Verlauf der Biotransformation von Substrat **184** mit JerF: blau = Umsatz zu Produkt **185**; rot = Mittelwertkurve mit Messfehlerkorrektur, ▲ = Ausreißer, wurde nicht für die Mittelwertkurve berücksichtigt.

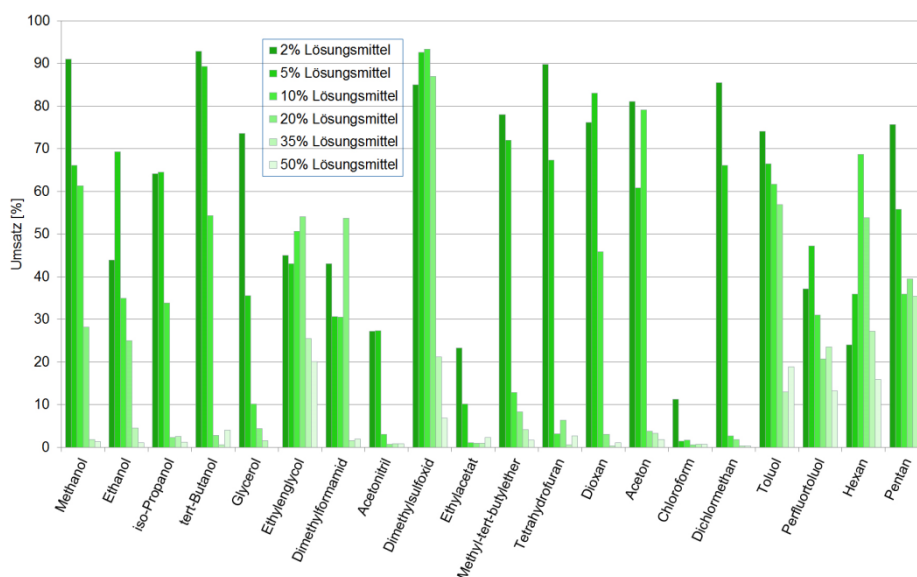
**Tabelle 21:** Umsätze von Substrat **184** mit JerF.

Zeit [min]	Umsätze	
	1 [%]	2 [%]
5	16.01	21.59
20	42.30	33.25
40	41.17	35.67
60	47.45	58.63
80	81.27	71.56
100	52.91	68.62
120	90.28	53.47
140	68.58	59.63
160	79.69	85.95
180	92.35	95.22
220	93.39	88.59

#### 5.1.3.4 Experimente zur Lösungsmitteltoleranz

Die enzymatische Substratumsetzung wurde durchgeführt in 200  $\mu\text{L}$  (25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM  $\text{MgCl}_2$ , pH 7.5) Reaktionspuffer mit JerF (1.9 - 2.3 mg/mL Gesamtproteinkonzentration), 0.25 mM Substrat und 1.0 mM SAM-Tosylat. Als Cosolvents wurden steigende Konzentrationen an unterschiedlichen Lösungsmitteln zugegeben. Die

Enzymaktivitätstests wurden für 4.3 h (für Projerangolid 2 h) bei 28 °C und 600 rpm inkubiert, bevor 100 µL ges. NaCl-Lösung zugegeben wurden. Es wurde zweimal mit 200 µL EtOAc extrahiert und das Lösungsmittel anschließend aus den vereinigten Extrakten unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in MeOH aufgenommen und mittels UPLC-MS analysiert. Die Umsätze wurden durch das Verhältnis der Substrat- und Produktintegrale bestimmt. Der Umsatz entspricht hierbei dem Anteil des Produktintegrals an der Summe von Substrat- und Produktintegral.



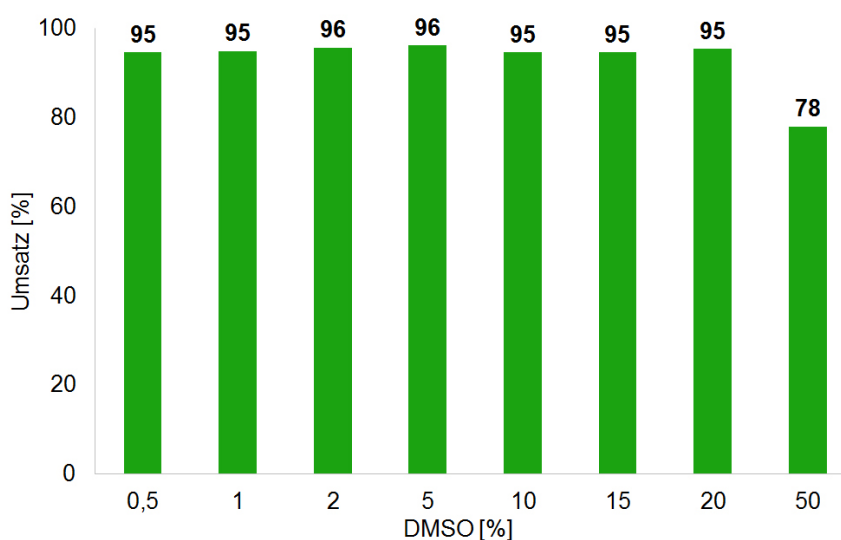
**Abbildung 41:** Lösungsmitteltoleranz von JerF bei der Umsetzung von Substrat **184**.

**Tabelle 22:** Umsätze von Substrat **184** mit JerF in unterschiedlichen Lösungsmitteln.

Lösungsmittel	Umsätze für die Konzentrationen [%]					
	2	5	10	20	35	50
Methanol	90.96	66.06	61.27	28.22	1.84	1.32
Ethanol	43.93	69.29	34.98	24.99	4.48	1.12
iso-Propanol	64.09	64.49	33.82	2.34	2.54	1.23
tert-Butanol	92.82	89.32	54.31	2.79	0.57	4.04
Glycerol	73.58	35.59	10.13	4.40	1.60	0.00
Ethylenglycol	44.97	43.03	50.69	54.14	25.53	20.09
Dimethylformamid	43.07	30.62	30.55	53.77	1.55	1.97
Acetonitril	27.18	27.34	3.05	0.77	0.81	0.88
Dimethylsulfoxid	84.97	92.56	93.34	86.90	21.27	6.83
Ethylacetat	23.30	10.17	1.10	1.00	0.93	2.32
Methyl-tert-butylether	78.06	71.94	12.92	8.35	4.15	1.74
Tetrahydrofuran	89.84	67.38	3.21	6.37	0.62	2.67
Dioxan	76.22	83.00	45.92	3.11	0.35	1.14
Aceton	81.03	60.79	79.12	3.85	3.31	1.86
Chloroform	11.31	1.42	1.66	0.65	0.76	0.70
Dichlormethan	85.52	66.04	2.68	1.77	0.32	0.36



Toluol	74.03	66.47	61.68	56.85	13.04	18.86
Perfluortoluol	37.10	47.25	31.05	20.74	23.59	13.29
Hexan	24.07	35.92	68.70	53.88	27.21	15.89
Pentan	75.63	55.77	35.91	39.46	35.44	39.92

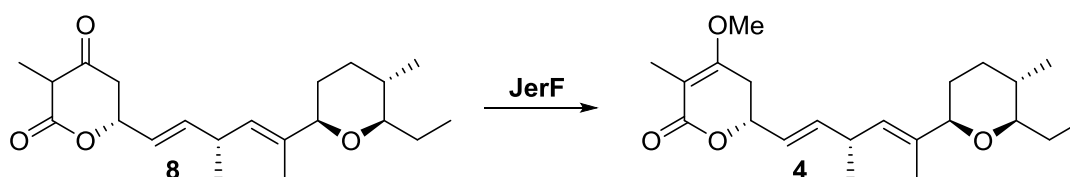


**Abbildung 42:** Toleranz von JerF gegenüber steigendem Anteil an DMSO bei der Reaktion mit Projerangolid (8).

**Tabelle 23:** Umsätze von Projerangolid (8) mit JerF in DMSO.

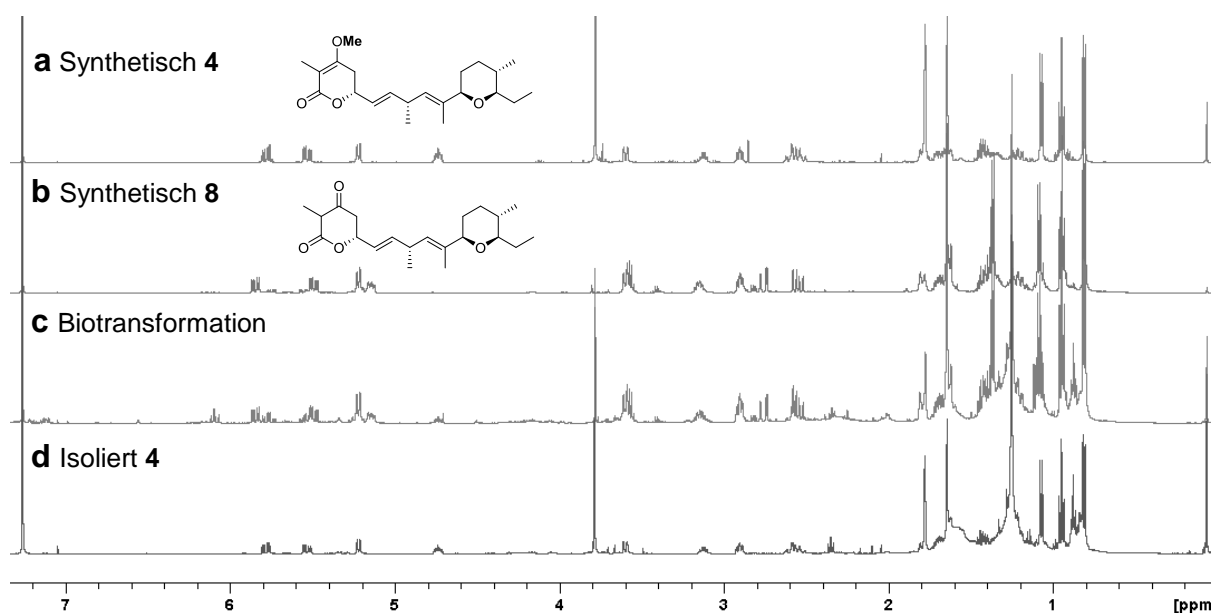
Konzentration DMSO [%]	Umsatz [%]
0.5	94.69
1	94.92
2	95.76
5	96.18
10	94.63
15	94.70
20	95.44
50	78.05

### 5.1.3.5 Biotransformation von Projerangolid mit JerF im semipräparativen Maßstab

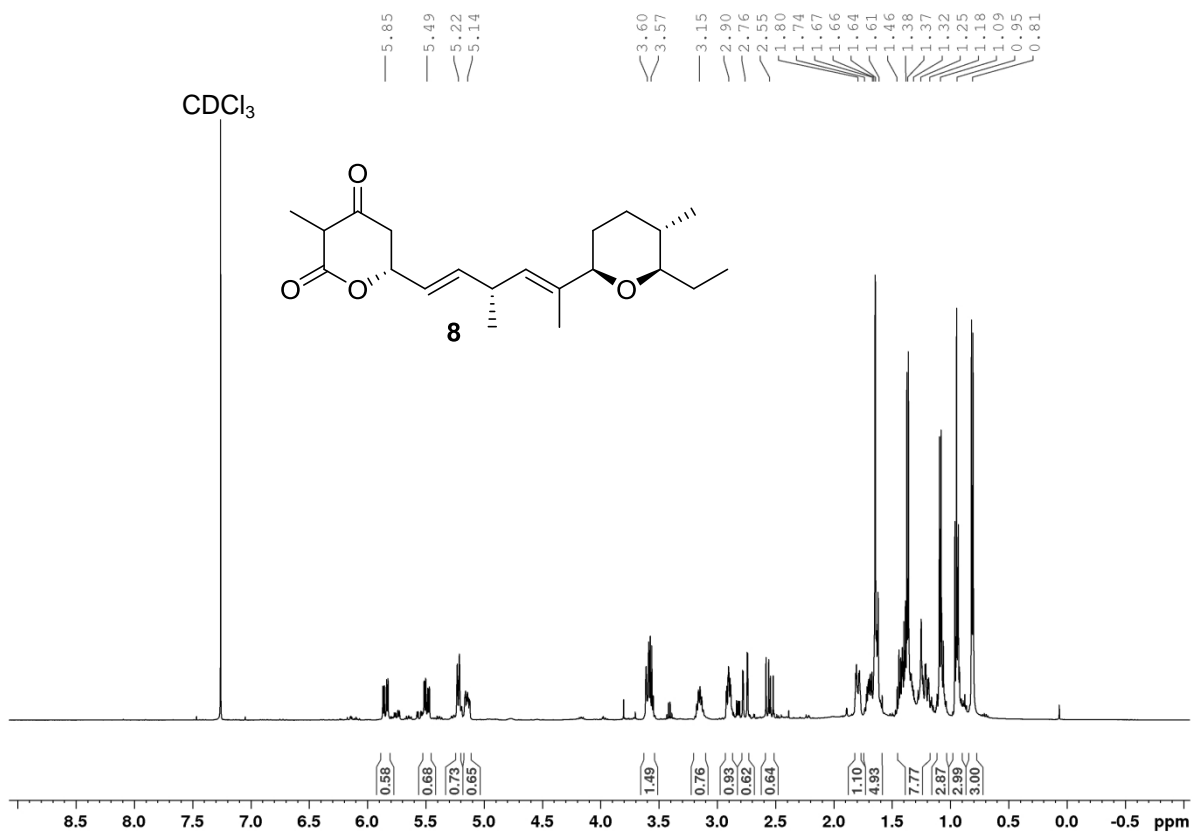
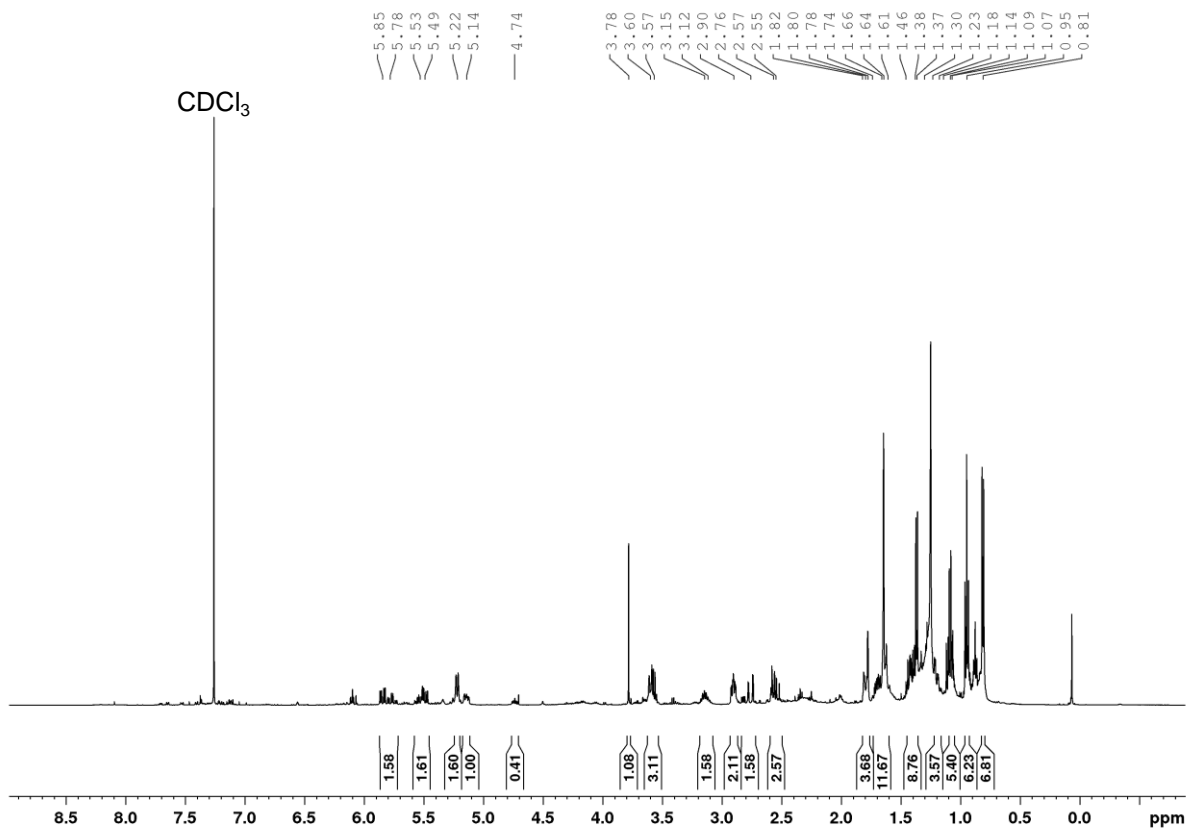


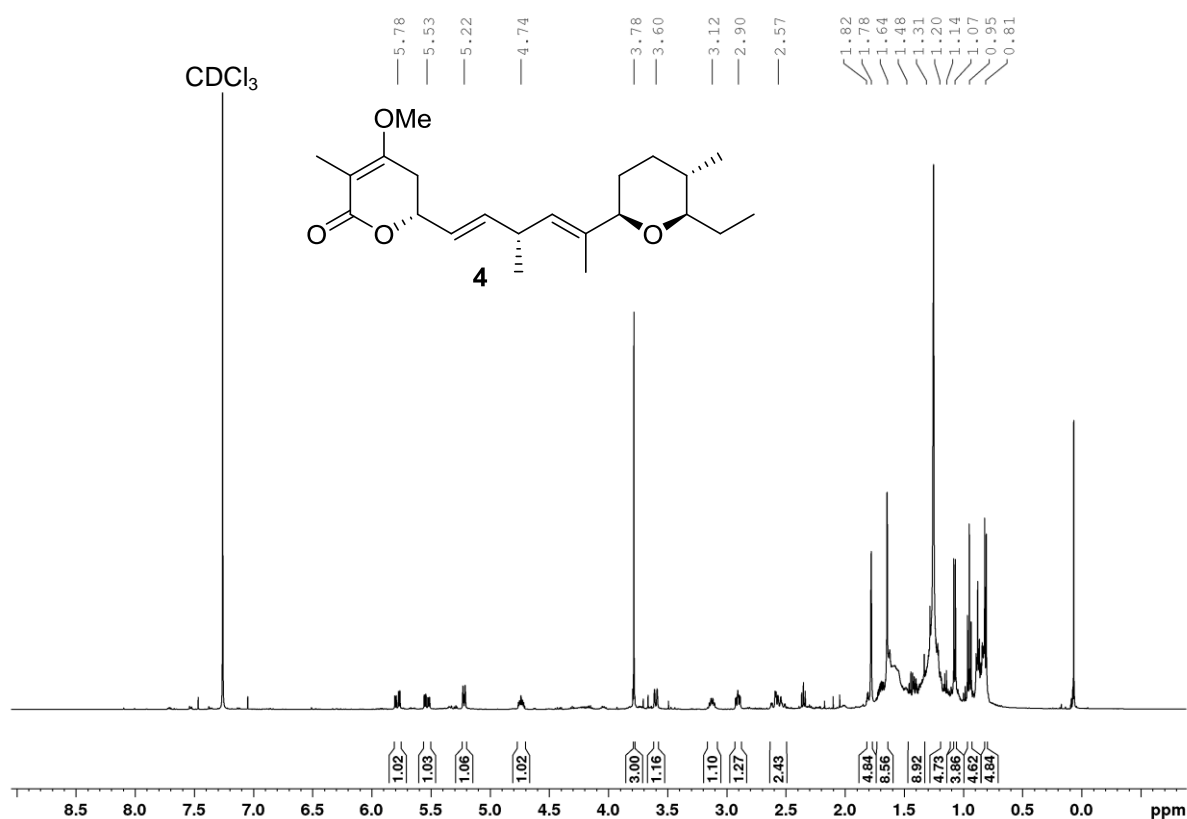
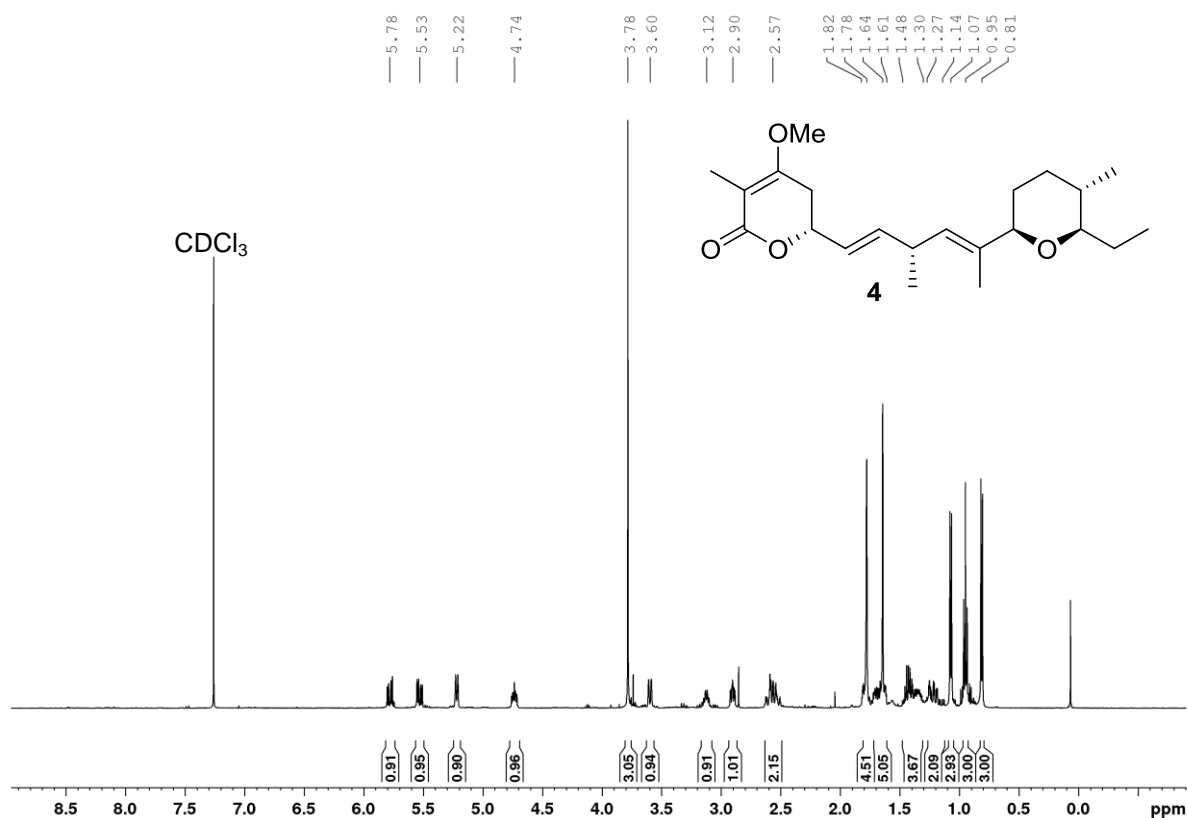
Für die Biotransformation von Projerangolid (8) im semipräparativen Maßstab wurde Projerangolid (8) (7.0 mg, 20.1  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äq., Endkonzentration 1.38 mM) in 500  $\mu\text{L}$

Reaktionspuffer (30 mM HEPES, 100 mM KCl, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.6) für 10 min bei 30 °C vorgelöst. Anschließend wurde Reaktionspuffer (12 mL) mit JerF (3.3 mg/mL Gesamtproteinkonzentration) zusammen mit einer Lösung aus ATP (26.7 mg, 48.4 µmol, 2.4 Äq., Endkonzentration 3.32 mM) und Methionin (7.2 mg, 48.3 µmol, 2.4 Äq., Endkonzentration 3.32 mM) in Reaktionspuffer (2 mL), TkMAT (480 µL, 94 µM, Endkonzentration 3.1 µM) und EcMTAN (100 µL, 225 µM, Endkonzentration 1.5 µM) zugegeben. Die Inkubation erfolgte für 20 h bei 30 °C und 125 rpm, bevor 15 mL ges. NaCl-Lösung zugegeben wurden. Es wurde viermal mit 15 mL EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen bis zu einem Volumen von 2 mL unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde mit H<sub>2</sub>O verdünnt und dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde Jerangolid E (**4**) (1.9 mg, 5.2 µmol, 26%) zusammen mit einer aliphatischen Verunreinigung isoliert.



**Abbildung 43:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektren (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) für die chemoenzymatische Umsetzung von Projerangolid (**8**) mit JerF zu Jerangolid E (**4**): **a**) Synthetisches Jerangolid E (**4**); **b**) Synthetisches Projerangolid (**8**); **c**) Ethylacetat-Extrakt der Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF; **d**) Isoliertes Jerangolid E (**4**) aus der Biotransformation von Projerangolid (**8**) mit JerF.

**Projerangolid (8)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz**Biotransformation von Projerangolid (8)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

**Isoliertes Jerangolid E (4)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz**Synthetisches Jerangolid E (4)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

## 5.2 Chemische Arbeiten

### 5.2.1 Allgemeine Hinweise zu den chemisch-synthetischen Arbeiten

#### Gerätschaften

Luft- oder feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen wurden unter Inertgasatmosphäre (Stickstoff oder Argon) in ofengetrockneten Glasgeräten durchgeführt. Spritzen und Kanülen wurden vor Verwendung mehrfach mit Inertgas gespült.

#### Lösemittel und Reagenzien

Es wurden absolutierte Lösungsmittel von der Firma ACROS ORGANICS verwendet. Für radikalische Reaktionen wurde Tetrahydrofuran über Natrium mit Benzophenon als Indikator refluxiert und anschließend destilliert. Alle Reagenzien, deren Herstellung nicht angegeben ist, wurden von den Firmen ACROS ORGANICS, ABCR, SIGMA-ALDRICH, FLUKA, TCI, ALFA AESAR, ROTH oder MERCK käuflich erworben und ohne weitere Reinigung verwendet. Wenn nötig wurde zum Entfernen von gelöstem Sauerstoff Argon durchgeleitet.

#### Säulenchromatographie

Säulenchromatographische Reinigung wurde an Kieselgel von MACHEREY-NAGEL (Korngröße 40 – 63  $\mu\text{m}$ , Porendurchmesser 60 Å) und an Kieselgel von Merck (Korngröße 35 – 70  $\mu\text{m}$ , Porendurchmesser 60 Å) durchgeführt. Die verwendeten Lösungsmittel wurden destilliert oder in analytischer Reinheit erworben. Das entsprechende Eluentenverhältnis ist in den einzelnen Versuchsvorschriften angegeben.

#### Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie wurde mit DC-Fertigfolien (ALUGRAM® Xtra SIL G/UV<sub>254</sub>) der Firma MACHEREY-NAGEL durchgeführt. Die Indikation erfolgte mittels Fluoreszenzlöschung ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) und unterschiedlichen Färbereagenzien (DNPH-, Anisaldehyd-, Cer-, Vanillin- und Kaliumpermanganat-Tauchreagenz) mit anschließender Wärmebehandlung.

#### NMR-Spektroskopie

Die Aufnahme von  $^1\text{H}$ -NMR Spektren erfolgte mit den Geräten DPX-400 (400 MHz), DPX-200 (200 MHz) und AVANCE DRX-500 (500 MHz) der Firma BRUKER bei Raumtemperatur. Das verwendete deuterierte Lösungsmittel ist jeweils angegeben. Die Kalibrierung erfolgte über das Signal des Restprotonengehalts des Lösungsmittels ( $\text{CDCl}_3$ :  $\delta = 7.26 \text{ ppm}$ ;  $\text{MeOD}$ :  $\delta = 3.31 \text{ ppm}$ ;  $\text{D}_2\text{O}$ :  $\delta = 4.79 \text{ ppm}$ ;). Die chemische Verschiebung  $\delta_{\text{H}}$  wird in ppm, die

Kopplungskonstante  $J$  in Hz angegeben. Die Multiplizitäten werden wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, sept = Septett, m = Multiplett. Vor der Multiplizität stehende Abkürzungen geben an: d = doppelt, b = breites Signal.

$^{13}\text{C}$ -NMR Spektren wurden mit dem Gerät DPX-400 (100 MHz) und AVANCE DRX-500 (125 MHz) der Firma BRUKER aufgenommen. Das verwendete deuterierte Lösungsmittel ist jeweils angegeben. Die Kalibrierung erfolgte über das deuteriumgekoppelte Signal des Lösungsmittels ( $\text{CDCl}_3$ :  $\delta = 77.16$  ppm;  $\text{MeOD}$ :  $\delta = 49.00$  ppm). Die chemische Verschiebung  $\delta_{\text{C}}$  wird in ppm angegeben. Zur Kennzeichnung der Signale wurden die folgenden Abkürzungen verwendet q = quartärer Kohlenstoff, t = tertiärer Kohlenstoff, s = sekundärer Kohlenstoff, p = primärer Kohlenstoff.

Sofern nötig wurden für eine vollständige Interpretation  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -Korrelations- (COSY) und HSQC-Experimente durchgeführt.

### Massenspektrometrie

Hochaufgelöste Massenspektren (HRMS) wurden durch Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS) mit einem MICROMASS LCT via *loop-mode* Injektion von einem WATERS (Alliance 2695) HPLC System oder an einem THERMO FISHER SCIENTIFIC Q Exactive™ (Orbitrap) Spektrometer mit einem UltiMate 3000™ UHPLC System gemessen. Alternative wurde ein MICROMASS Q-TOF in Kombination mit einem WATERS Acquity Ultrapformance LC System verwendet.

### Drehwerte

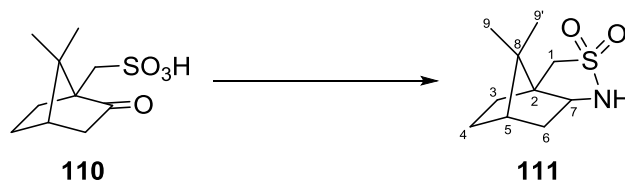
Spezifische Rotationen  $[\alpha]$  wurden, sofern nicht anders angegeben, bei 20 °C mit einem Polarimeter 341 der Firma PERKIN-ELMER in einer 10 cm Quarzglasküvette bei einer Wellenlänge von 589.3 nm (Natriumdampflampe) gemessen. Die Angabe der Drehwerte erfolgt in  $10^{-1} \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ , wobei die Konzentration  $c$  definitionsgemäß in  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  angegeben ist.

### Schmelzpunkt

Schmelzpunktbestimmungen wurden mit einem Gerät vom Typ Optimelt der Firma SRS durchgeführt.

## 5.2.2 Synthetische Vorschriften

### (6*S*)-Camphersultam (**111**)



Zu (-)-Camphersulfonsäure **110** (102 g, 440 mmol, 1 Äq.) wurde Thionylchlorid (60.0 mL, 880 mmol, 2 Äq.) tropfenweise zugegeben. Es wurde auf 115 °C erhitzt bis keine Gasentwicklung mehr festzustellen war, bevor 2 Tropfen DMF zugegeben wurden. Überschüssiges Thionylchlorid wurde unter vermindertem Druck entfernt und anschließend mit Toluol (50 mL) codestilliert.

Das erhaltene Rohprodukt wurde in 1,4-Dioxan (200 mL) gelöst und zu -5 °C kalter konzentrierter Ammoniak-Lösung (1.7 L) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt und dann auf 90 °C für 3.5 h erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Produkt abfiltriert und mit H<sub>2</sub>O (2 x 50 mL) gewaschen.

Das Rohprodukt der vorherigen Stufe wurde in MeOH/H<sub>2</sub>O (134 mL, 3:1) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. NaBH<sub>4</sub> (16.0 g, 440 mmol, 1 Äq.) wurde langsam, portionsweise zugegeben. Nach Abschluss der Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) aufgenommen, und in 2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (540 mL) gegeben. Es wurde zweimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck konnte das Produkt **111** (74.8 g, 350 mmol, 79% über 3 Stufen) als farbloser Feststoff gewonnen werden.

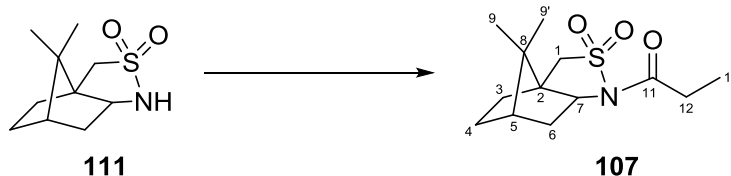
**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.08-4.00 (bs, 1 H, NH), 3.48-3.36 (m, 1 H, 7-CH), 3.11 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>), 2.05-1.78 (m, 5 H, 6-CH<sub>2</sub>, 4-CH<sub>2</sub>, 5-CH), 1.52-1.22 (m, 2 H, 3-CH<sub>2</sub>), 1.13 (s, 3 H, 9-CH<sub>3</sub>), 0.93 (s, 3 H, 9'-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 63.0 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 55.3 (t, 7-CH<sub>2</sub>), 50.5 (q, 2-C), 47.6 (q, 8-C), 44.8 (t, 5-CH), 36.2 (s, 3-CH<sub>2</sub>), 32.0 (s, 6-CH<sub>2</sub>), 26.9 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 20.7 (p, 9-CH<sub>3</sub>), 20.6 (p, 9'-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: ber. 216.1058 gef. 216.1054.

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>**: +28.8 (c = 1.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 9:1): 0.26.

**N-Propionylbornan-10,2-sultam (107)**

Sultam **111** (20.0 g, 92.9 mmol, 1 Äq.) wurde in Toluol (400 mL) gelöst und NaH (5.57 g, 60% Dispersion in Mineralöl, 139 mmol, 1.5 Äq.) portionsweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur 3 h gerührt. Nach Zugabe von Propionylchlorid (12.2 mL, 139 mmol, 1.5 Äq.) wurde das Gemisch weitere 2 h gerührt. Die Reaktion wurde auf 0 °C abgekühlt und durch Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (120 mL) beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wenig Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Durch Umkristallisation aus Toluol konnte Propionylsultam **107** (23.7 g, 87.3 mmol, 94%) in Form farbloser, nadelförmiger Kristalle gewonnen werden.

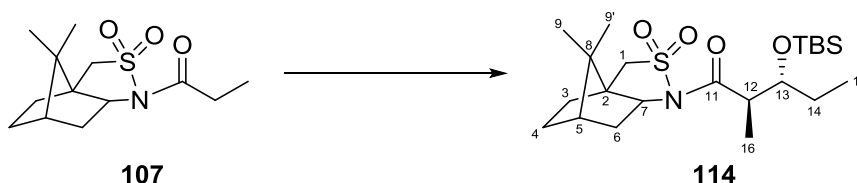
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.86 (dd, *J* = 7.7, 5.0 Hz, 1 H, 7-CH), 3.45 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>), 2.82-2.66 (m, 2 H, 12-CH<sub>2</sub>), 2.17-2.04 (m, 2 H, 6-CH<sub>2</sub>), 1.95-1.84 (m, 3 H, 4-CH<sub>2</sub>, 5-CH), 1.44-1.31 (m, 2 H, 3-CH<sub>2</sub>), 1.15 (s, 3 H, 9-CH<sub>3</sub>), 1.15 (t, *J* = 7.3 Hz, 3 H, 13-CH<sub>3</sub>), 0.96 (s, 3 H, 9'-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172.7 (q, 11-C), 65.2 (t, 7-CH), 52.6 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 48.5 (q, 8-C), 47.8 (q, 2-C), 44.7 (t, 5-CH), 38.4 (s, 6-CH<sub>2</sub>), 32.9 (s, 3-CH<sub>2</sub>), 28.8 (s, 12-CH<sub>2</sub>), 26.5 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 20.8 (p, 9-CH<sub>3</sub>), 20.0 (p, 9'-CH<sub>3</sub>), 8.3 (p, 13-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>SNa [M+Na]<sup>+</sup>: ber. 294.1140 gef. 294.1136.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +134.4 (c = 1.3, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**Smp.**: 145°C.

**N-(2*R*,3*R*)-3((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylpentanalbornan-10,2-sultam (114)**

Propionylsultam **107** (8.00 g, 29.4 mmol, 1 Äq.) wurde in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 mL) gelöst, DIPEA (7.71 mL, 44.1 mmol, 1.5 Äq.) gefolgt von TMSOTf (9.58 mL, 53.0 mmol, 1.8 Äq.) langsam zugetropft und bei Raumtemperatur für 20 h gerührt. In einem separaten Kolben wurde



Propionaldehyd (3.20 mL, 44.1 mmol, 1.5 Äq.) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80 mL) bei  $-78^\circ\text{C}$  gelöst und  $\text{TiCl}_4$  (44.1 mL, 44.1 mmol, 1.5 Äq., 1 M in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) über einen Zeitraum von 15 min zugegeben. Zu diesem Reaktionsgemisch wurde die auf  $-78^\circ\text{C}$  gekühlte Lösung des vorkomplexierten Propionylsultams langsam zugetropft. Nach abgeschlossener Zugabe wurde das Reaktionsgemisch bei  $-78^\circ\text{C}$  für 1 h gerührt, bevor bei  $0^\circ\text{C}$  ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung zugegeben und für 2 h gerührt wurde. Es wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt ohne weitere Reinigung direkt in die nächste Stufe eingesetzt.

Aldolprodukt **112** wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (120 mL) bei  $-78^\circ\text{C}$  gelöst, 2,6-Lutidin (5.57 mL, 46.9 mmol, 1.6 Äq.) und TBSOTf (10.8 mL, 46.9 mmol, 1.6 Äq.) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur gerührt. Nach 16 h wurde die Reaktion durch Zugabe von ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Filtrieren über Silicagel (PE/EE 9:1) wurde ein gelblicher Feststoff als Rohprodukt (14 g) erhalten, welcher ohne weitere Reinigung direkt in die nächste Stufe eingesetzt wurde.

Eine analytische Probe wurde durch säulenchromatographische Reinigung (Hex/EE 10:1→6:1) des Rohprodukts erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.06 (ddd,  $J = 7.2, 6.1, 3.0$  Hz, 1 H, 13-CH), 3.88 (dd,  $J = 7.5, 5.1$  Hz, 1 H, 7-CH), 3.45 (m, 2 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.29 (dt,  $J = 6.6, 13.0$  Hz, 1 H, 12-CH), 2.09-1.97 (m, 2 H, 6- $\text{CH}_2$ ), 1.95-1.84 (m, 3 H, 5-CH, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.52-1.25 (m, 4 H, 14- $\text{CH}_2$ , 3- $\text{CH}_2$ ), 1.15 (s, 3 H, 9- $\text{CH}_3$ ), 1.11 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, 12- $\text{CH}_3$ ), 0.96 (s, 3 H, 9'- $\text{CH}_3$ ), 0.89-0.85 (m, 12 H, 14- $\text{CH}_3$ , OTBS), 0.09 (s, 3 H, OTBS), 0.06 (s, 3 H, OTBS) ppm.

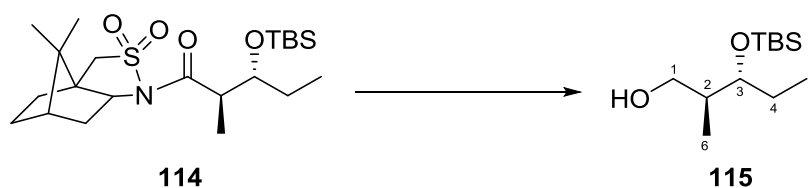
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.3 (q, 11-C), 73.9 (t, 13-CH), 65.4 (t, 7-CH), 53.1 (s, 1- $\text{CH}_2$ ), 48.1 (q, 8-C), 47.7 (q, 2-C), 46.0 (t, 12-CH), 44.7 (t, 5-CH), 38.6 (s, 6- $\text{CH}_2$ ), 32.8 (s, 3- $\text{CH}_2$ ), 26.5 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 25.9 (p, OTBS), 25.1 (s, 14- $\text{CH}_2$ ), 20.7 (p, 9- $\text{CH}_3$ ), 19.9 (p, 9'- $\text{CH}_3$ ), 18.1 (q, OTBS), 10.7 (p, 16- $\text{CH}_3$ ), 9.3 (p, 15- $\text{CH}_3$ ), -4.4 (p, OTBS), -5.0 (p, OTBS) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{NO}_4\text{SSiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 466.2423 gef. 466.2421.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +18.5 ( $c = 1.1$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

**Smp.**:  $135^\circ\text{C}$ .

**$R_f$**  (PE/EE 9:1): 0.29.

**(2*S*,3*R*)-3-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylpentan-1-ol (115)**

Das Rohprodukt aus der vorherigen Stufe wurde in Et<sub>2</sub>O/MeOH (20:1, 210 mL) gelöst und auf zwei Reaktionskolben aufgeteilt. Zu beiden Reaktionsmischungen wurde bei 0 °C LiBH<sub>4</sub> (500 mg, 23.7 mmol, 1.5 Äq.) hinzugegeben. Nach 18 h bei 0 °C wurden die Reaktionen durch Zugabe von 1 M HCl (100 mL) beendet. Die Reaktionsmischungen wurden vereinigt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in wenig Toluol aufgenommen und solange erhitzt bis eine klare Lösung erhalten wurde. Diese wurde langsam abgekühlt, vorsichtig mit Petrolether überschichtet und anschließend an einem ungestörtem Ort aufbewahrt. Nach zwei Tagen wurde der Überstand abgenommen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Filtrieren über Silicagel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EE 100:1) ergab ein gelbliches Öl als Rohprodukt (8.30 g), welches ohne weitere Reinigung für die nächste Stufe verwendet wurde.

Eine analytische Probe wurde durch säulenchromatographische Reinigung (PE/EE 25:1→19:1) des Rohproduktes erhalten.

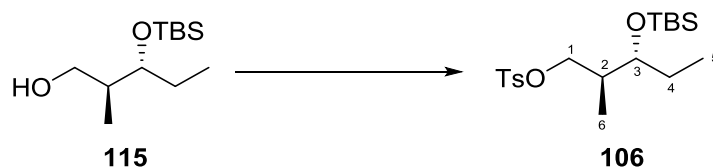
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.78 (dd, *J* = 10.9, 3.6 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.63 (m, 1 H, 3-CH), 3.54 (dd, *J* = 10.9, 5.3 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 1.78 (m, 1 H, 2-CH), 1.60 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 0.99 (d, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 6-CH<sub>3</sub>), 0.90 (m, 9 H, OTBS), 0.87 (m, 3 H, 5-CH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 3 H, OTBS), 0.08 (s, 3 H, OTBS) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 78.8 (t, 3-CH), 65.7 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 37.2 (t, 2-CH), 27.6 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 26.0 (p, OTBS), 18.1 (q, OTBS), 14.9 (p, 6-CH<sub>3</sub>), 9.1 (p, 5-CH<sub>3</sub>), -4.2 (p, OTBS), -4.6 (p, OTBS) ppm.

**MS** [ESI] *m/z* für C<sub>12</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup>: ber. 255.18 gef. 255.26.

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>**: -10.2 (*c* = 1.0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 20:1): 0.20.

**(2*S*,3*R*)-3-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylpentyltosylat (106)**

Das Rohprodukt aus der vorherigen Stufe wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (280 mL) gelöst und auf vier Reaktionskolben aufgeteilt. Zu allen Reaktionsmischungen wurden bei 0 °C Pyridin (1.04 ml, 12.9 mmol, 1.5 Äq.) und Tosylchlorid (1.80 g, 9.46 mmol, 1.1 Äq.) langsam zugegeben. Nach 96 h bei Raumtemperatur wurden die Reaktionen durch Zugabe von ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (30 mL) beendet. Die Reaktionsmischungen wurden vereinigt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 40:1) konnte Tosylat **106** (7.70 g, 19.9 mmol, 68% über vier Stufen) gewonnen werden.

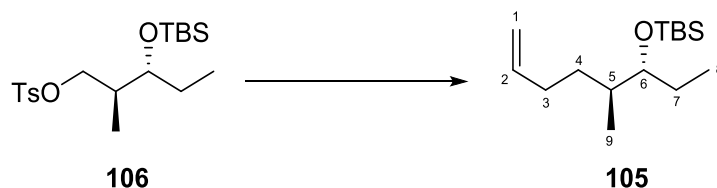
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.78 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2 H, H-Ar), 7.33 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2 H, H-Ar), 4.07 (dd,  $J = 9.4, 5.1$  Hz, 1 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.85 (dd,  $J = 9.4, 7.3$  Hz, 1 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.49 (q,  $J = 5.5$  Hz, 1 H, 3-CH), 2.44 (s, 3 H, Me-Ar), 1.94 (m, 1 H, 2-CH), 1.49-1.31 (m, 2 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 0.86 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3 H, 6- $\text{CH}_3$ ), 0.82-0.78 (m, 12 H, OTBS, 5- $\text{CH}_3$ ), 0.00 (s, 3 H, OTBS), -0.04 (s, 3 H, OTBS) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  144.6 (q, OTs), 133.1 (q, OTs), 129.8 (t, OTs), 128.0 (t, OTs), 74.1 (t, 3-CH-), 72.8 (s, 1- $\text{CH}_2$ ), 36.9 (t, 2-CH), 26.2 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 25.8 (p, OTBS), 21.6 (p, Me-Ts), 18.0 (q, OTBS), 13.4 (p, 6- $\text{CH}_3$ ), 8.6 (p, 5- $\text{CH}_3$ ), -4.3 (p, OTBS), -4.9 (p, OTBS) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{SSiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 409.1845 gef. 409.1844.

**$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$** : -13.7 ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

**$R_f$**  (PE/EE 25:1): 0.44.

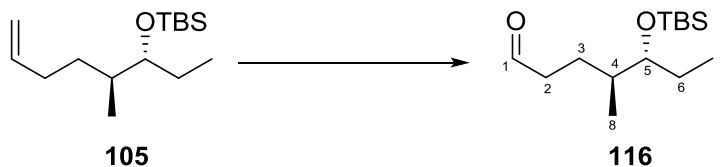
***tert*-Butyldimethyl(((3*R*,4*S*)-4-methyloct-7-en-3-yl)oxy)silan (**105**)**

Allylmagnesiumbromid (31.0 mL, 31.0 mmol, 4 Äq., 1 M in Et<sub>2</sub>O) wurde in Et<sub>2</sub>O (52 mL) vorgelegt und Tosylat **106** (3.00 g, 7.76 mmol, 1 Äq.) hinzugegeben. Es wurde bei 50 °C für 2.5 h gerührt, dann auf 0 °C abgekühlt, ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (15 mL) zugegeben und für eine weitere Stunde gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Et<sub>2</sub>O extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck (150 mbar) entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE) konnte Alken **105** (1.96 g, 7.64 mmol, 98%) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.80 (dddd, *J* = 13.7, 6.7, 6.7, 5.2 Hz, 1 H, 2-CH), 5.01 (ddt, *J* = 17.1, 2.7, 1.4 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 4.94 (ddt, *J* = 10.1, 2.2, 1.1 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.43 (q, *J* = 5.5 Hz, 1 H, 6-CH), 2.13 (m, 1 H, 3-CH<sub>2</sub>) 1.98 (m, 1 H, 3-CH<sub>2</sub>), 1.59 (m, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.50-1.35 (m, 3 H, 5-CH, 7-CH<sub>2</sub>), 1.22-1.11 (m, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 0.90 (m, 9 H, OTBS), 0.86 (m, 6 H, 8-CH<sub>3</sub>, 9-CH<sub>3</sub>), 0.03 (s, 3 H, OTBS), 0.03 (s, 3 H, OTBS) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 139.3 (t, 2-CH), 114.2 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 77.3 (t, 6-CH), 37.5 (t, 5-CH), 31.9 (s, 3-CH<sub>2</sub>), 31.6 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 26.1 (p, OTBS), 25.0 (s, 7-CH<sub>2</sub>), 18.2 (q, OTBS), 14.6 (p, 9-CH<sub>3</sub>), 10.2 (p, 8-CH<sub>3</sub>), -4.4 (p, OTBS), -4.5 (p, OTBS) ppm.

**R<sub>f</sub>** (PE): 0.66.

**(4*S*,5*R*)-5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-4-methylheptanal (**116**)**

Alken **105** (3.55 g, 13.8 mmol, 1 Äq.) wurde in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (70 mL) gelöst und auf -78 °C abgekühlt. Es wurde Ozon bis zu einer bleibenden, blauen Färbung durch die Lösung geleitet. Nach 10 min wurde Sauerstoff bis zu Entfärbung durch die Lösung geleitet und die Reaktion durch Zugabe von PPh<sub>3</sub> (3.99 g, 15.2 mmol, 1.1 Äq.) beendet. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/Et<sub>2</sub>O 50:1) wurde Aldehyd **116** (3.54 g, 13.7 mmol, 99%) erhalten.

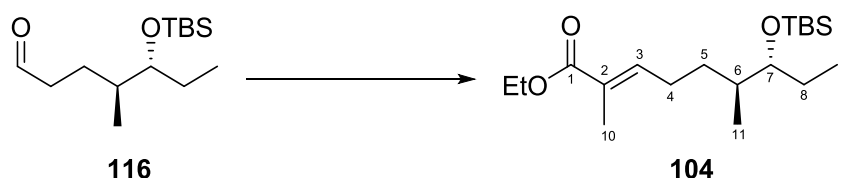
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.77 (t,  $J = 1.9$  Hz, 1 H, 1-CHO), 3.44 (q,  $J = 5.3$  Hz, 1 H, 5-CH), 2.54-2.45 (m, 1 H, 2- $\text{CH}_2$ ), 2.42-2.33 (m, 1 H, 2- $\text{CH}_2$ ), 1.82-1.73 (m, 1 H, 3- $\text{CH}_2$ ), 1.63-1.53 (m, 1 H, 3- $\text{CH}_2$ ), 1.47-1.36 (m, 3 H, 4-CH, 6- $\text{CH}_2$ ), 0.90-0.84 (m, 15 H, OTBS, 8- $\text{CH}_3$ , 7- $\text{CH}_3$ ), 0.04 (s, 3 H, OTBS), 0.03 (s, 3 H, OTBS) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  202.9 (t, 1-CHO), 77.2 (t, 5-CH), 42.1 (t, 4-CH), 37.1 (s, 3- $\text{CH}_2$ ), 25.9 (p, OTBS), 25.5 (s, 2- $\text{CH}_2$ ), 24.2 (s, 6- $\text{CH}_2$ ), 18.1 (q, OTBS), 15.0 (p, 8- $\text{CH}_3$ ), 9.9 (p, 7- $\text{CH}_3$ ), -4.3 (p, OTBS), -4.5 (p, OTBS) ppm.

**MS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{14}\text{H}_{30}\text{O}_2\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 281.19 gef. 281.33.

**$R_f$**  (PE/ $\text{Et}_2\text{O}$  50:1): 0.16.

**(6*S*,7*R*,*E*)-Ethyl-7-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2,6-dimethylnon-2-enoat (**104**)**



Aldehyd **116** (1.91 g, 7.41 mmol, 1 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (35 mL) gelöst und (Carbethoxyethyliden)triphenylphosphoran (5.37 g, 14.8 mmol, 2 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur für 22 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 50:1) wurde Ethylester **104** (2.19 g, 6.39 mmol, 86%) gewonnen.

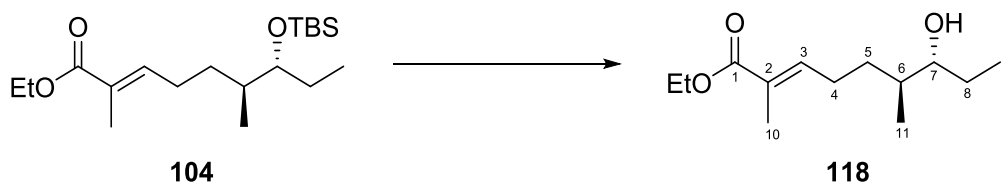
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6.75 (dt,  $J = 7.3, 1.4$  Hz, 1 H, 3-CH), 4.18 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2 H, OEt), 3.43 (q,  $J = 5.5$  Hz, 1 H, 7-CH), 2.28-2.18 (m, 1 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 2.16-2.04 (m, 1 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.83 (s, 3 H, 10- $\text{CH}_3$ ), 1.63-1.56 (m, 1 H, 5- $\text{CH}_2$ ), 1.53-1.46 (m, 1 H, 5- $\text{CH}_2$ ), 1.44-1.36 (m, 2 H, 8- $\text{CH}_2$ ), 1.29 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, OEt), 1.26-1.19 (m, 1 H, 6-CH), 0.89-0.84 (m, 15 H, OTBS, 11- $\text{CH}_3$ , 9- $\text{CH}_3$ ), 0.03 (s, 3 H, OTBS), 0.02 (s, 3 H, OTBS) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168.3 (q, 1-C), 142.5 (t, 3-CH), 127.7 (q, 2-C), 77.2 (t, 7-CH), 60.4 (s, OEt), 37.5 (t, 6-CH), 31.1 (s, 5- $\text{CH}_2$ ), 26.7 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 25.9 (p, OTBS), 25.2 (s, 8- $\text{CH}_2$ ), 18.2 (q, OTBS), 14.8 (p, 11- $\text{CH}_3$ ), 14.3 (p, OEt), 12.3 (p, 10- $\text{CH}_3$ ), 10.2 (p, 9- $\text{CH}_3$ ), -4.4 (p, OTBS), -4.5 (p, OTBS) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_3\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 365.2488 gef. 365.2484.

**$[\alpha]_D^{20}$** : -2.2 ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

**$R_f$**  (PE/ $\text{Et}_2\text{O}$  5:1): 0.78.

**(6*S*,7*R*,*E*)-Ethyl-7-hydroxy-2,6-dimethylnon-2-enoat (118)**

Ester **104** (4.66 g, 13.6 mmol, 1 Äq.) wurde in MeOH (300 mL) gelöst, PPTS (14.2 g, 56.5 mmol, 4.2 Äq.) zugegeben und für drei Tage bei 50 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Es wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 6:1) wurde Produkt **118** (3.07 g, 13.5 mmol, 99%) erhalten.

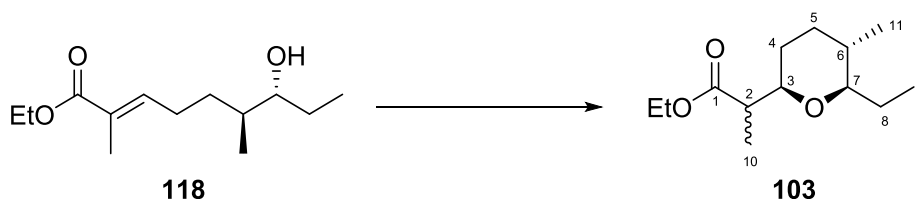
**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6.74 (m, 1 H, 3-CH), 4.18 (q, *J* = 7.1 Hz, 2 H, OEt), 3.36 (m, 1 H, 7-CH), 2.19 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.83 (m, 3 H, 10-CH<sub>3</sub>), 1.72-1.37 (m, 4 H, 5-CH<sub>2</sub>, 8-CH<sub>2</sub>), 1.35-1.20 (m, 1 H, 6-CH), 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 3 H, OEt), 0.96 (t, *J* = 7.8 Hz, 3 H, 9-CH<sub>3</sub>), 0.92 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H, 11-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 168.4 (q, 1-C), 142.4 (t, 3-CH), 127.9 (q, 4-CH<sub>2</sub>), 77.5 (t, 7-CH), 60.6 (s, OEt), 38.3 (t, 6-CH), 30.8 (s, 5-CH<sub>2</sub>), 26.5 (s, 8-CH<sub>2</sub>), 26.5 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 15.4 (p, 11-CH<sub>3</sub>), 14.4 (p, OEt), 12.5 (p, 10-CH<sub>3</sub>), 10.5 (p, 9-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber. 251.1623 gef. 251.1623.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -6.3 (c = 1.2, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 5:1): 0.28.

**Ethyl-2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-yl)-propanoat (103)**

Ester **118** (548 mg, 2.40 mmol, 1 Äq.) wurde in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (32 mL) gelöst und KO<sup>t</sup>Bu (269 mg, 2.40 mmol, 1 Äq.) bei 0 °C zugegeben und für 4 h gerührt. Die Reaktion wurde mit ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung beendet. Es wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und nach

säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 39:1) wurde Produkt **103** (488 mg, 2.14 mmol, 89%) als Diastereomerengemisch erhalten.

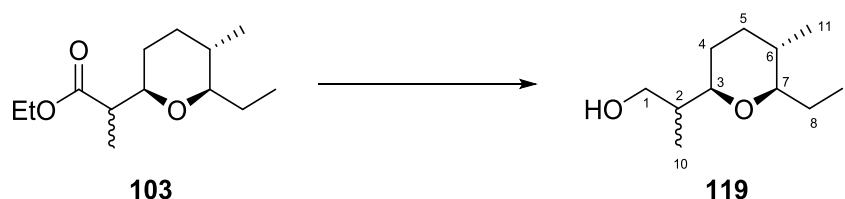
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.13 (m, 2 H, OEt), 3.40 (m, 1 H, 3-CH), 2.83-2.76 (m, 1 H, 7-CH), 2.51-2.42 (m, 1 H, 2-CH), 1.82-1.61 (m, 2 H, 5-CH<sub>2</sub>, 6-CH<sub>2</sub>), 1.55 (m, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.38-1.14 (m, 9 H, 4-CH<sub>2</sub>, 6-CH, 8-CH<sub>2</sub>, 10-CH<sub>3</sub>, 5-CH<sub>2</sub>, OEt), 1.09 (d, *J* = 7.2 Hz, 1 H, 10-CH<sub>3</sub>), 0.92, 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3 H, 9-CH<sub>3</sub>), 0.80, 0.79 (d, *J* = 6.5 Hz, 3 H, 11-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 175.6, 175.0 (q, 1-C), 85.0, 84.8 (t, 7-CH), 79.5, 78.5 (t, 3-CH), 60.2 (s, OEt), 45.9, 45.8 (t, 2-CH), 35.1, 35.0 (t, 6-CH), 32.8 (s, 5-CH<sub>2</sub>), 30.0, 28.9 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 26.1, 25.9 (s, 8-CH<sub>2</sub>), 17.7, 17.6 (p, 11-CH<sub>3</sub>), 14.3, 14.2 (p, OEt), 13.4, 13.2 (p, 10-CH<sub>3</sub>), 9.9, 9.8 (p, 9-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber. 251.1623 gef. 251.1623.

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 39:1): 0.07 und 0.13.

#### 2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-propanol (**119**)



Ester **103** (459 mg, 2.01 mmol, 1 Äq.) wurde in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (35 mL) gelöst und auf -78 °C abgekühlt. Es wurde langsam vorgekühltes DIBAL-H (8.04 mL, 8.04 mmol, 4 Äq., 1 M in Hexan) zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wurde bei 0 °C für 5 h gerührt, bevor ges. K-Na-Tartrat-Lösung (50 mL) zugegeben wurde. Nach 16 h wurden die Phasen getrennt und dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 5:1) wurde Alkohol **119** (375 mg, 2.01 mmol, 99%) erhalten.

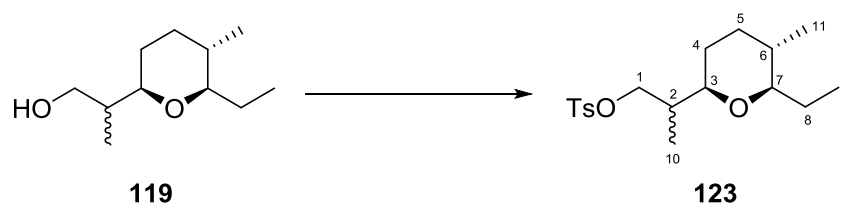
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.71-3.59 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.51-3.45, 3.20 (m, 1 H, 3-CH), 2.92-2.84 (m, 1 H, 7-CH), 1.94 (m, 1 H, 2-CH), 1.83-1.64 (m, 4 H, 2'-CH, 8-CH<sub>2</sub>, 4-CH<sub>2</sub>, 5-CH<sub>2</sub>), 1.53-1.45 (m, 1 H, 8-CH<sub>2</sub>), 1.43-1.29 (m, 3 H, 4-CH<sub>2</sub>, 4'-CH<sub>2</sub>, 6-CH), 1.22-1.11 (m, 1 H, 5-CH<sub>2</sub>), 0.97-0.89 (m, 4 H, 10-CH<sub>3</sub>, 9-CH<sub>3</sub>), 0.85 (m, 2 H, 10-CH<sub>3</sub>), 0.81 (m, 3 H, 11-CH<sub>3</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  85.1, 85.0 (t, 7-CH), 84.5, 81.9 (t, 3-CH), 68.5, 66.9 (t, 2-CH), 40.2, 38.7 (s, 1- $\text{CH}_2$ ), 34.6 (t, 6-CH), 32.8, 32.7 (s, 5- $\text{CH}_2$ ), 30.5, 27.0 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 25.8 (s, 8- $\text{CH}_2$ ), 17.7 (p, 11- $\text{CH}_3$ ), 13.7, 11.8 (p, 10- $\text{CH}_3$ ), 9.8, 9.6 (p, 9- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_2\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 209.1517 gef. 209.1517.

**$R_f$**  (PE/EE 5:1): 0.42 und 0.53.

**2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-propyl-4-methylbenzolsulfonat (**123**)**



Alkohol **119** (60.0 mg, 0.32 mmol, 1 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurden Pyridin (40.0  $\mu\text{L}$ , 0.48 mmol, 1.5 Äq.) und TsCl (67.5 mg, 0.35 mmol, 1.1 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur für 4 Tage gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung beendet und für weitere 24 h gerührt. Anschließend wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 10:1) wurde Tosylat **123** (83.1 mg, 0.24 mmol, 76%) als leicht gelbliches Öl erhalten.

**$^1\text{H}$ -NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.78 (m, 2 H, OTs), 7.34 (m, 2 H, OTs), 4.14-4.02, 3.90 (m, 2 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.21, 3.02 (m, 1 H, 3-CH), 2.68 (m, 1 H, 7-CH), 2.45, 2.44 (s, 3 H, OTs), 1.88-1.70, 1.65-1.54 (m, 4 H, 2-CH, 4- $\text{CH}_2$ , 5- $\text{CH}_2$ , 8- $\text{CH}_2$ ), 1.42-1.05 (m, 4 H, 4- $\text{CH}_2$ , 5- $\text{CH}_2$ , 6-CH, 8- $\text{CH}_2$ ), 0.90 (m, 3 H, 10- $\text{CH}_3$ ), 0.83-0.75 (m, 6 H, 9- $\text{CH}_3$ , 11- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  144.6, 144.5 (q, OTs), 133.1, 133.0 (q, OTs), 129.8, 129.7 (t, OTs), 127.9, 127.9 (OTs), 84.5, 84.4 (t, 7-CH), 77.7, 76.6 (t, 3-CH), 72.8, 72.7 (s, 1- $\text{CH}_2$ ), 38.5, 38.0 (t, 2-CH), 34.9, 34.7 (t, 6-CH), 32.9, 32.8 (s, 5- $\text{CH}_2$ ), 29.4, 28.7 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 25.9, 25.9 (s, 8- $\text{CH}_2$ ), 21.6, 21.6 (p, OTs), 17.6 (p, 10- $\text{CH}_3$ ), 13.1, 11.5 (p, 10- $\text{CH}_3$ ), 9.7, 9.6 (p, 11- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{SNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 363.1606 gef. 363.1604.

**$R_f$**  (PE/EE 10:1): 0.44.



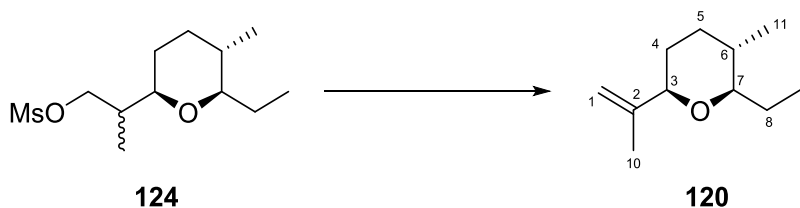
**2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-propylmethansulfonat (**124**)**

Alkohol **119** (1.33 g, 7.10 mmol, 1 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (45 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurden DIPEA (1.86 mL, 10.7 mmol, 1.5 Äq.) und  $\text{MsCl}$  (824  $\mu\text{L}$ , 10.7 mmol, 1.5 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 18 h gerührt. Anschließend wurde die organische Phase zweimal mit  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Filtrieren über Silicagel (PE/EE 10:1) wurde gelbes Öl (1.97 g) erhalten, welches direkt für die nächste Stufe genutzt wurde.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.35-4.25, 4.10 (m, 2 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.31, 3.10 (m, 1 H, 3-CH), 2.99, 2.99 (s, 3 H, OMs), 2.83-2.76 (m, 1 H, 7-CH), 1.95, 1.89 (m, 1 H, 2-CH), 1.79, 1.73-1.62 (m, 3 H, 4- $\text{CH}_2$ , 5- $\text{CH}_2$ , 8- $\text{CH}_2$ ), 1.50-1.10 (m, 4 H, 4- $\text{CH}_2$ , 5- $\text{CH}_2$ , 6-CH, 8- $\text{CH}_2$ ), 1.00 (m, 3 H, 9- $\text{CH}_3$ ), 0.96-0.89 (m, 3 H, 10- $\text{CH}_3$ ), 0.80 (m, 3 H, 11- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{SNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 287.1293 gef. 287.1293.

**$R_f$**  (PE/EE 10:1): 0.10.

**(2*R*,3*S*,6*R*)-2-Ethyl-3-methyl-6-(prop-1-en-2-yl)tetrahydro-2*H*-pyran (**120**)**

Das Rohprodukt aus der vorherigen Stufe wurde in DMF (190 mL) gelöst und vor Lichteinfall geschützt. Im Dunkeln wurde NaI (3.19 g, 21.3 mmol, 3 Äq.) zugegeben und bei 53 °C gerührt. Nach 18 h wurde DBU (1.89 mL, 12.8 mmol, 1.8 Äq.) zugetropft und auf 83 °C erhitzt. Nach weiteren 6 h wurde die Reaktionsmischung in einen mit Eis gefüllten Scheidetrichter überführt. Es wurde dreimal mit Pentan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 1 M HCl und ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde Alken **120** (1.3 g) als gelbliches Öl erhalten und ohne weitere Reinigung in die nächste Stufe eingesetzt. Alken **120** besitzt einen charakteristischen Geruch, der an verbrannte Piniennadeln erinnert.

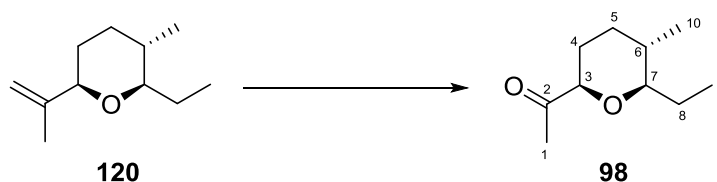
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.97 (m, 1 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 4.80 (m, 1 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.65 (bd,  $J = 10.9$  Hz, 1 H, 3-CH), 2.91 (ddd,  $J = 9.3, 7.9, 2.8$  Hz, 1 H, 7-CH), 1.81 (m, 1 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.76 (s, 3 H, 10- $\text{CH}_3$ ), 1.75-1.66 (m, 2 H, 5- $\text{CH}_2$ , 8- $\text{CH}_2$ ), 1.47-1.19 (m, 4 H, 4- $\text{CH}_2$ , 5- $\text{CH}_2$ , 6-CH, 8- $\text{CH}_2$ ), 0.96 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3 H, 9- $\text{CH}_3$ ), 0.82 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3 H, 11- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  146.8 (q, 2-C), 109.8 (s, 1- $\text{CH}_2$ ), 84.6 (t, 7-CH), 80.4 (t, 3-CH), 34.6 (t, 6-CH), 33.3 (s, 5- $\text{CH}_2$ ), 30.9 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 26.1 (s, 8- $\text{CH}_2$ ), 19.5 (p, 10- $\text{CH}_3$ ), 17.9 (p, 11- $\text{CH}_3$ ), 9.7 (p, 9- $\text{CH}_3$ ) ppm.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +1.4 ( $c = 0.7$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 50:1): 0.31

### 1-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)ethan-1-on (**98**)



Das Rohprodukt aus der vorherigen Stufe wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) gelöst und auf  $-78^\circ\text{C}$  abgekühlt. Es wurde Ozon bis zu einer bleibenden, blauen Färbung durch die Lösung geleitet. Anschließend wurde bis zur Entfärbung der Lösung Sauerstoff eingeleitet und  $\text{Me}_2\text{S}$  (547  $\mu\text{L}$ , 7.46 mmol, 1.05 Äq.) zugegeben. Nach 18 h bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 15:1) wurde Keton **98** (746 mg, 4.38 mmol, 62% über drei Stufen) erhalten.

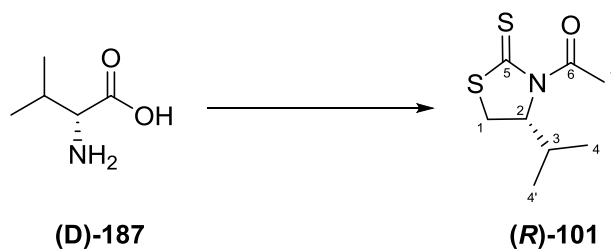
**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.71 (dd,  $J = 11.7, 2.2$  Hz, 1 H, 3-CH), 2.90 (ddd,  $J = 9.2, 8.8, 2.5$  Hz, 1 H, 7-CH), 2.21 (s, 3 H, 1- $\text{CH}_3$ ), 1.85 (m, 2 H, 4- $\text{CH}_2$ , 5- $\text{CH}_2$ ), 1.74 (dq,  $J = 14.5, 7.3, 2.8$  Hz, 1 H, 8- $\text{CH}_2$ ), 1.44 (m, 1 H, 8- $\text{CH}_2$ ), 1.41-1.31 (m, 2 H, 4- $\text{CH}_2$ , 6-CH), 1.26-1.16 (m, 1 H, 5- $\text{CH}_2$ ), 0.98 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3 H, 9- $\text{CH}_3$ ), 0.83 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3 H, 10- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  210.6 (q, 2-C), 84.7 (t, 7-CH), 83.2 (t, 3-CH), 34.5 (t, 6-CH), 32.5 (s, 5- $\text{CH}_2$ ), 28.5 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 25.9 (p, 1- $\text{CH}_3$ ), 25.9 (s, 8- $\text{CH}_2$ ), 17.6 (p, 10- $\text{CH}_3$ ), 9.7 (p, 9- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber. 171.1380 gef. 171.1376.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +1.3 ( $c = 0.7$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 12:1): 0.44.

**(R)-1-(4-Isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)ethan-1-on ((R)-101)**

NaBH<sub>4</sub> (15.5 g, 410 mmol, 2.4 Äq.) wurde in THF (450 mL) gelöst und D-Valin **(D)-187** (20.0 g, 171 mmol, 1 Äq.) wurde zugegeben. Bei 0 °C wurde eine Lösung von I<sub>2</sub> (43.3 g, 171 mmol, 1 Äq.) in THF (110 mL) tropfenweise über 30 min zugegeben. Nachdem keine Gasentwicklung mehr festzustellen war, wurde bei 80 °C für 18 h refluxiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde MeOH zugeben bis eine klare Lösung erhalten wurde und für 30 min gerührt. Durch Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde eine farblose Paste erhalten, welche in 20%-iger KOH-Lösung (68.0 g KOH in 340 mL H<sub>2</sub>O) gelöst und bei Raumtemperatur gerührt wurde. Nach 14 h wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das so erhaltene D-Valinol wurde ohne weitere Reinigung in die nächste Stufe eingesetzt.

D-Valinol aus der vorherigen Stufe wurde in EtOH (48 mL) gelöst und CS<sub>2</sub> (40.0 mL, 665 mmol, 3.9 Äq.) zugegeben. Es wurde 2.25 M KOH-Lösung (EtOH/H<sub>2</sub>O 1:1, 192 mL) tropfenweise bei Raumtemperatur zugegeben. Anschließend wurde zunächst bei 75 °C für 66 h refluxiert. Die Temperatur wurde für 24 h auf 98 °C erhöht und schließlich für weitere 30 h auf 110 °C. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch unter vermindertem Druck eingeeengt. Es wurde vorsichtig mit 0.5 M HCl neutralisiert, dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt direkt für die nächste Stufe verwendet.

(R)-Thiazolidinthion aus der vorherigen Stufe wurde in THF (500 mL) gelöst. Bei -10 °C wurde langsam, portionsweise NaH (6.86 g, 171 mmol, 1 Äq.) zugegeben. Nach vollständiger Zugabe wurde 1 h bei 0 °C gerührt. Es wurde AcCl (12.2 mL, 171 mmol, 1 Äq.) tropfenweise zugegeben, 30 min bei 0 °C und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung bei 0 °C beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer

Reinigung (PE/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1) wurde Produkt **(R)-101** (24.5 g, 121 mmol, 71% über 3 Stufen) als viskoses, gelb-grünes Öl erhalten.

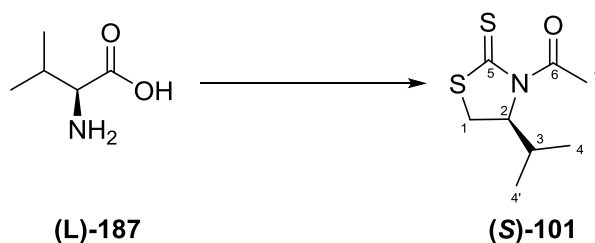
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.15 (ddd, *J* = 7.8, 6.4, 1.3 Hz, 1 H, 2-CH), 3.50 (dd, *J* = 11.4, 8.0 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.02 (dd, *J* = 11.4, 1.2 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 2.77 (s, 3 H, 7-CH<sub>3</sub>), 2.36 (dsept, *J* = 7.0, 6.8 Hz, 1 H, 3-CH), 1.06 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H, 4'-CH<sub>3</sub>), 0.97 (d, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 4-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 203.3 (q, 5-C), 170.8 (q, 6-C), 71.4 (t, 2-C), 30.9 (s, 1-C), 30.5 (t, 3-C), 27.1 (p, 7-C), 19.2 (p, 4'-C), 17.9 (p, 4-C) ppm.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -392.5 (c = 1.0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1): 0.17.

**(S)-1-(4-Isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)ethan-1-on ((S)-101)**



NaBH<sub>4</sub> (19.4 g, 510 mmol, 2.4 Äq.) wurde in THF (450 mL) gelöst und L-Valin **(L)-187** (25.0 g, 210 mmol, 1 Äq.) wurde zugegeben. Bei 0 °C wurde eine Lösung von I<sub>2</sub> (54.2 g, 210 mmol, 1 Äq.) in THF (140 mL) tropfenweise über 30 min zugegeben. Nachdem keine Gasentwicklung mehr festzustellen war, wurde bei 80 °C für 18 h refluxiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde MeOH zugeben bis eine klare Lösung erhalten wurde und für 30 min gerührt. Durch Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde eine farblose Paste erhalten, welche in 20%-iger KOH-Lösung (85.0 g KOH in 425 mL H<sub>2</sub>O) gelöst und bei Raumtemperatur gerührt wurde. Nach 4 h wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das so erhaltene L-Valinol (20.4 g) wurde ohne weitere Reinigung in die nächste Stufe eingesetzt.

L-Valinol aus der vorherigen Stufe wurde in EtOH (62 mL) gelöst und CS<sub>2</sub> (51.0 mL, 850 mmol, 4 Äq.) zugegeben. Es wurde 2.25 M KOH-Lösung in EtOH/H<sub>2</sub>O (1:1, 246 mL, 31.1 g KOH) tropfenweise bei Raumtemperatur zugegeben. Die Lösung wurde für 66 h bei 75 °C, 30 h bei 98 °C und 24 h bei 110 °C refluxiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde vorsichtig mit 0.5 M HCl neutralisiert und die wässrige Phase dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in die nächste Stufe eingesetzt.

Das Rohprodukt aus der vorherigen Stufe wurde in THF (700 mL) gelöst und auf  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Es wurde langsam, portionsweise NaH (9.60 g, 240 mmol, 1.1 Äq., 60% in Mineralöl) zugegeben und bei  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Nach 1 h wurde AcCl (17.1 mL, 240 mmol, 1.1 Äq.) tropfenweise zugegeben, 30 min bei  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung bei  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:1) wurde Produkt (**S**)-**101** (34.1 g, 170 mmol, 79% über 3 Stufen) als viskoses, gelb-grünes Öl erhalten.

**$^1\text{H}$ -NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.15 (ddd,  $J = 8.0, 6.3, 1.2\text{ Hz}$ , 1 H, 2-CH), 3.50 (dd,  $J = 11.4, 8.0\text{ Hz}$ , 1 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.02 (dd,  $J = 11.5, 1.1\text{ Hz}$ , 1 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 2.77 (s, 3 H, 7- $\text{CH}_3$ ), 2.36 (dsept,  $J = 7.0, 6.8\text{ Hz}$ , 1 H, 3-CH), 1.06 (d,  $J = 6.8\text{ Hz}$ , 3 H, 4'- $\text{CH}_3$ ), 0.97 (d,  $J = 6.8\text{ Hz}$ , 3 H, 4- $\text{CH}_3$ ) ppm;

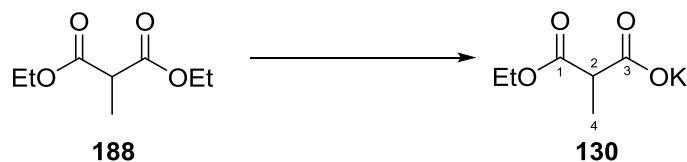
**$^{13}\text{C}$ -NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  203.4 (q, 5-C), 170.8 (q, 6-C), 71.4 (t, 2-C), 30.9 (s, 1-C), 30.5 (t, 3-C), 27.1 (p, 7-C), 19.2 (p, 4'-C), 17.9 (p, 4-C) ppm;

**MS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NOS}_2\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 226.03 gef. 226.18.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +380.9 ( $c = 0.9$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

**R<sub>f</sub>** (PE/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:1): 0.17.

### Kalium-3-ethoxy-2-methyl-3-oxopropanoat (**130**)



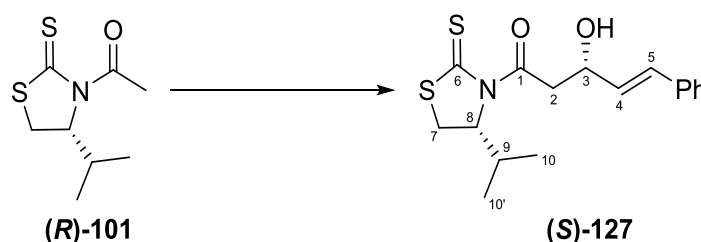
Diethylmethylmalonat **188** (13.6 mL, 80 mmol, 1 Äq.) wurde in EtOH (90 mL) gelöst und  $\text{H}_2\text{O}$  (1.44 mL, 80 mmol, 1 Äq.) zugegeben. Die Lösung wurde 2 h bei  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt, bevor KO $t$ Bu (8.98 g, 80 mmol, 1 Äq.) in EtOH (90 mL) über 90 min tropfenweise zugegeben wurde. Nach vollständiger Umsetzung des Startmaterials (Überprüfung via DC) wurde EtOH unter vermindertem Druck entfernt. Das Kaliumsalz wurde mit  $\text{Et}_2\text{O}$  (40 mL) ausgefällt und abfiltriert. Der Filterkuchen wurde zweimal mit  $\text{Et}_2\text{O}/\text{EtOH}$  (1:1, 10 mL) und dreimal mit

Et<sub>2</sub>O (20 mL) gewaschen. Der so erhaltene Feststoff wurde 10 h im Hochvakuum bei 50 °C getrocknet. Kaliumsalz **130** wurde als farbloser Feststoff (13.0 g, 70 mmol, 88%) gewonnen.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4.15 (q, *J* = 7.1 Hz, 2 H, OEt), 3.34 (q, *J* = 7.2 Hz, 1 H, 2-CH), 1.28 (d, *J* = 7.5 Hz, 3 H, 4-CH<sub>3</sub>), 1.23 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H, OEt) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 178.2 (q, 3-C), 174.7 (q, 1-C), 61.9 (s, OEt), 49.3 (t, 2-C), 13.6 (p, OEt), 13.2 (p, 4-C) ppm.

**(*S,E*)-3-Hydroxy-1-((*R*)-4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)-5-phenylpent-4-en-1-on ((*S*)-127)**

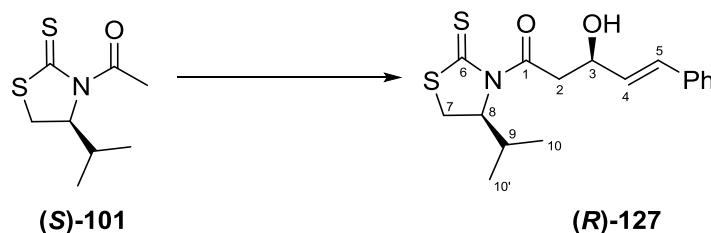


(*R*)-NAGAO-Auxiliar (**(*R*)-101** (730 mg, 3.59 mmol, 1 Äq.) wurde in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (18 mL) gelöst und auf -78 °C abgekühlt. Es wurde TiCl<sub>4</sub> (3.6 mL, 3.60 mmol, 1 Äq., 1 M in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) zugetropft und für 10 min bei -40 °C gerührt. DIPEA (690 µL, 3.96 mmol, 1.1 Äq.) wurde bei -78 °C zugegeben und die Reaktion wurde für 2 h bei -40 °C gerührt. Die Reaktion wurde auf -78 °C abgekühlt und Zimtaldehyd (500 µL, 3.97 mmol, 1.1 Äq.) zugetropft. Nach 1 h wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung beendet. Es wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels und säulenchromatographischer Reinigung (Hex/EE 6:1→3:1) wurde Aldolprodukt (**(*S*)-127** (1.05 g, 3.11 mmol, 87% und 96 mg, 0.29 mmol, 8%; *d.r.* 10.7:1) erhalten und direkt weiter umgesetzt.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.40 (m, 2 H, Ph), 7.32 (m, 2 H, Ph), 7.25 (m, 1 H, Ph), 6.68 (dd, *J* = 15.9, 1.2 Hz, 1 H, 5-CH), 6.28 (dd, *J* = 15.9, 6.0 Hz, 1 H, 4-CH), 5.17 (m, 1 H, 8-CH), 4.86 (m, 1 H, 3-CH), 3.75 (dd, *J* = 17.7, 3.1 Hz, 1 H, 7-CH<sub>2</sub>), 3.52 (dd, *J* = 11.6, 8.0 Hz, 1 H, 2-CH<sub>2</sub>), 3.42 (dd, *J* = 17.6, 8.7 Hz, 1 H, 7-CH<sub>2</sub>), 3.04 (dd, *J* = 11.5, 1.0 Hz, 1 H, 2-CH<sub>2</sub>), 2.38 (m, 1 H, 9-CH), 1.07 (d, *J* = 7.1 Hz, 3 H, 10-CH<sub>3</sub>), 1.00 (d, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 10'-CH<sub>3</sub>) ppm.

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 4:1): 0.23 und 0.35.

**(*R,E*)-3-Hydroxy-1-((*S*)-4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)-5-phenylpent-4-en-1-on ((*R*)-127)**

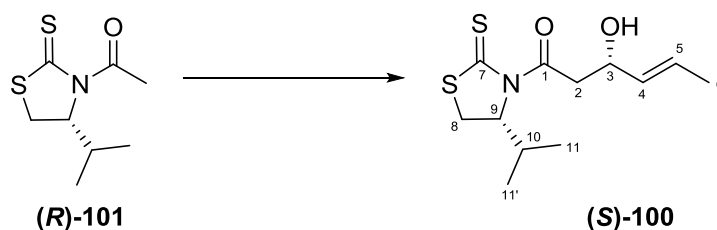


(*S*)-NAGAO-Auxiliar (**(*S*)-101**) (500 mg, 2.46 mmol, 1 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (12 mL) gelöst und auf  $-78^\circ\text{C}$  abgekühlt. Es wurde  $\text{TiCl}_4$  (2.71 mL, 2.71 mmol, 1.1 Äq., 1 M in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) zugetropft und für 10 min bei  $-40^\circ\text{C}$  gerührt. DIPEA (472  $\mu\text{L}$ , 2.71 mmol, 1.1 Äq.) wurde bei  $-78^\circ\text{C}$  zugegeben und die Reaktion für 2 h bei  $-40^\circ\text{C}$  gerührt. Die Reaktion wurde auf  $-78^\circ\text{C}$  abgekühlt und Zimtaldehyd (341  $\mu\text{L}$ , 2.71 mmol, 1.1 Äq.) zugetropft. Nach 1 h wurde die Reaktion durch Zugabe von ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung beendet. Es wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels und säulenchromatographischer Reinigung (PE/Et<sub>2</sub>O 8:1→3:1) wurde Produkt (**(*R*)-127**) (658 g, 1.96 mmol, 80%) erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.40 (m, 2 H, Ph), 7.32 (m, 2 H, Ph), 7.25 (m, 1 H, Ph), 6.68 (dd,  $J = 15.9, 1.4$  Hz, 1 H, 5-CH), 6.28 (dd,  $J = 16.0, 6.0$  Hz, 1 H, 4-CH), 5.17 (m, 1 H, 8-CH), 4.86 (m, 1 H, 3-CH), 3.75 (dd,  $J = 17.6, 3.1$  Hz, 1 H, 7-CH<sub>2</sub>), 3.52 (dd,  $J = 11.6, 8.0$  Hz, 1 H, 2-CH<sub>2</sub>), 3.42 (dd,  $J = 17.7, 8.7$  Hz, 1 H, 7-CH<sub>2</sub>), 3.04 (dd,  $J = 11.6, 0.9$  Hz, 1 H, 2-CH<sub>2</sub>), 2.38 (m, 1 H, 9-CH), 1.07 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, 10-CH<sub>3</sub>), 1.00 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3 H, 10'-CH<sub>3</sub>) ppm.

**$R_f$**  (PE/EE 3:1): 0.22.

**(*S,E*)-3-hydroxy-1-((*R*)-4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)hex-4-en-1-on ((*S*)-100)**



(*R*)-NAGAO-Auxiliar (**(*R*)-101**) (2.00 g, 9.84 mmol, 1 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 mL) gelöst und bei  $-78^\circ\text{C}$   $\text{TiCl}_4$  (9.84 mL, 9.84 mmol, 1 Äq., 1 M in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) zugetropft. Nach 10 min wurde DIPEA (2.06 mL, 11.8 mmol, 1.2 Äq.) tropfenweise zugegeben und für 1 h bei  $-78^\circ\text{C}$  gerührt. Anschließend wurde Crotonaldehyd (731  $\mu\text{L}$ , 8.86 mmol, 0.9 Äq.) zugegeben und für

1 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/Et<sub>2</sub>O 7:1→4:1) konnte das Aldolprodukt (**(S)**-**100** (2.08 g, 7.61 mmol, 77%) als gelbes Öl gewonnen werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.76 (dq,  $J = 15.3, 6.5, 1.2$  Hz, 1 H, 4-CH), 5.56 (ddq,  $J = 15.3, 6.5, 1.6$  Hz, 1 H, 5-CH), 5.16 (ddd,  $J = 7.9, 6.3, 1.2$  Hz, 1 H, 9-CH), 4.62 (m, 1 H, 3-CH), 3.62 (dd,  $J = 17.7, 2.9$  Hz, 1 H, 2-CH<sub>2</sub>), 3.52 (dd,  $J = 11.5, 8.0$  Hz, 8-CH<sub>2</sub>), 3.30 (dd,  $J = 17.7, 9.0$  Hz, 1 H, 2-CH<sub>2</sub>), 3.04 (dd,  $J = 11.6, 1.1$  Hz, 1 H, 8-CH<sub>2</sub>), 2.37 (dsept,  $J = 6.7, 6.8$  Hz, 1 H, 10-CH), 1.71 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3 H, 6-CH<sub>3</sub>), 1.07 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3 H, 11'-CH<sub>3</sub>), 0.99 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, 11-CH<sub>3</sub>) ppm.

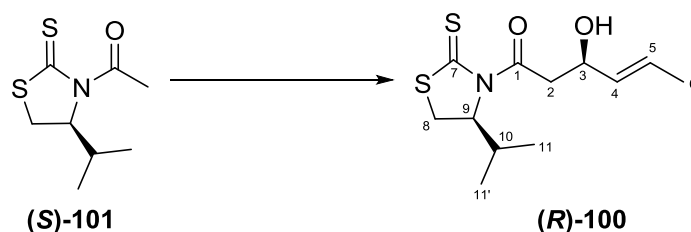
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  203.1 (q, 7-C), 172.8 (q, 1-C), 131.8 (t, 4-CH), 127.6 (t, 5-CH), 71.5 (t, 9-CH), 68.9 (t, 3-CH), 45.6 (s, 2-CH<sub>2</sub>), 31.0 (s, 8-CH<sub>2</sub>), 30.8 (t, 10-CH), 19.2 (p, 6-CH<sub>3</sub>), 18.0 (p, 11-CH<sub>3</sub>), 17.9 (p, 11'-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{NO}_2\text{S}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber. 274.0930 gef. 274.0925.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : -293.5 ( $c = 0.4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 8:1): 0.07.

**(R,E)-3-Hydroxy-1-((R)-4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)hex-4-en-1-on ((R)-100)**



(S)-NAGAO-Auxiliar (**(S)**-**101** (2.93 g, 14.4 mmol, 1 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (150 mL) gelöst und bei  $-78^\circ\text{C}$   $\text{TiCl}_4$  (14.4 mL, 14.4 mmol, 1 Äq., 1 M in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) über 30 min zugetropft. Nach 20 min wurde DIPEA (3.01 mL, 17.3 mmol, 1.2 Äq.) über 20 min tropfenweise zugegeben und für 1 h bei  $-78^\circ\text{C}$  gerührt. Anschließend wurde Crotonaldehyd (1.00 mL, 12.1 mmol, 0.9 Äq.) zugegeben und für 1 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung beendet und 30 min gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer



Reinigung (Hex/EE 8:1→4:1) konnte das Aldolprodukt (**R**)-**100** (2.50 g, 9.14 mmol, 75%) als gelbes Öl gewonnen werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.76 (dq, *J* = 15.3, 6.5, 1.2 Hz, 1 H, 4-CH), 5.56 (ddq, *J* = 15.3, 6.5, 1.6 Hz, 1 H, 5-CH), 5.16 (ddd, *J* = 7.9, 6.3, 1.2 Hz, 1 H, 9-CH), 4.62 (m, 1 H, 3-CH), 3.62 (dd, *J* = 17.7, 2.9 Hz, 1 H, 2-CH<sub>2</sub>), 3.52 (dd, *J* = 11.5, 8.0 Hz, 8-CH<sub>2</sub>), 3.30 (dd, *J* = 17.7, 9.0 Hz, 1 H, 2-CH<sub>2</sub>), 3.04 (dd, *J* = 11.6, 1.1 Hz, 1 H, 8-CH<sub>2</sub>), 2.37 (dsept, *J* = 6.7, 6.8 Hz, 1 H, 10-CH), 1.71 (d, *J* = 6.4 Hz, 3 H, 6-CH<sub>3</sub>), 1.07 (d, *J* = 6.7 Hz, 3 H, 11'-CH<sub>3</sub>), 0.99 (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H, 11-CH<sub>3</sub>) ppm.

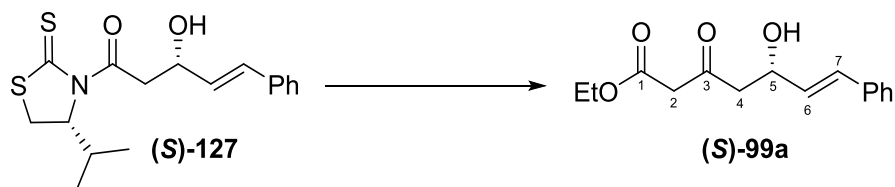
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 203.1 (q, 7-C), 172.8 (q, 1-C), 131.8 (t, 4-CH), 127.6 (t, 5-CH), 71.5 (t, 9-CH), 68.9 (t, 3-CH), 45.6 (s, 2-CH<sub>2</sub>), 31.0 (s, 8-CH<sub>2</sub>), 30.8 (t, 10-CH), 19.2 (p, 6-CH<sub>3</sub>), 18.0 (p, 11-CH<sub>3</sub>), 17.9 (p, 11'-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>NOS<sub>2</sub> [M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup>: ber. 256.0824 gef. 256.0827.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +239.8 (c = 0.5, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1): 0.70.

#### Ethyl-(*S,E*)-5-hydroxy-3-oxo-7-phenylhept-6-enoat ((*S*)-**99a**)



Aldolprodukt (**S**)-**127** (310 mg, 0.92 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (2.3 mL) gelöst, Kaliumethylmalonat **129** (314 mg, 1.85 mmol, 2 Äq.) und MgCl<sub>2</sub> (87 mg, 0.92 mmol, 1 Äq.) zugegeben und die resultierende Suspension bei Raumtemperatur für 30 min stark gerührt. Anschließend wurde Imidazol (63 mg, 0.92 mmol, 1 Äq.) zugegeben und über Nacht weiter stark gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit EtOAc verdünnt und mit 0.5 M HCl gewaschen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit 0.5 M NaHCO<sub>3</sub> gewaschen. Es wurde dreimal mit EtOAc reextrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 4:1) wurde Produkt (**S**)-**99a** (170 mg, 0.65 mmol, 71%) als gelbes Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.37 (m, 2 H, Ar-H), 7.32 (m, 2 H, Ar-H), 7.25 (m, 1 H, Ar-H), 6.65 (dd, *J* = 15.9, 1.1 Hz, 1 H, 7-CH), 6.21 (dd, *J* = 15.9, 6.2 Hz, 1 H, 6-CH), 4.80 (m,

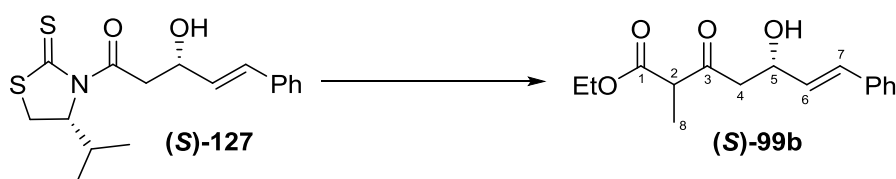
1 H, 5-CH), 4.21 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2 H, OEt), 3.51 (s, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 2.88 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.28 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, OEt) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  203.0 (q, 3-C), 167.0 (q, 1-C), 136.5 (q, Ar-C), 130.9 (t, 6-CH), 129.9 (t, 7-CH), 128.7 (t, Ar-C), 128.0 (t, Ar-C), 126.7 (t, Ar-C), 126.7 (t, Ar-C), 68.5 (t, 5-CH), 61.7 (s, OEt), 50.1 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 49.7 (s, 2-CH<sub>2</sub>), 14.2 (p, OEt) ppm.

$R_f$  (PE/EE 2.3:1): 0.51.

*Notiz:* Nur die analytischen Daten für das Haupttautomer sind angegeben.

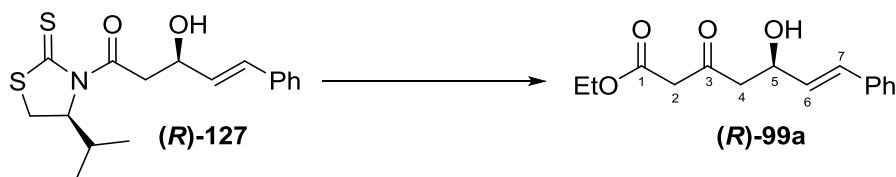
**(5*S*,*E*)-Ethyl-5-hydroxy-2-methyl-3-oxo-7-phenylhept-6-enoat ((*S*)-**99b**)**



Aldolprodukt (**(S)-127**) (575 mg, 1.71 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (4.3 mL) gelöst, Kalium-3-ethoxy-2-methyl-3-oxopropanoat **130** (632 mg, 3.43 mmol, 2 Äq.) und MgCl<sub>2</sub> (163 mg, 1.71 mmol, 1 Äq.) zugegeben und die so erhaltene Suspension stark gerührt. Nach 30 min wurde Imidazol (117 mg, 1.71 mmol, 1 Äq.) zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 18 h wurde die Lösung mit EtOAc verdünnt, mit 0.5 M HCl gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 0.5 M NaHCO<sub>3</sub> gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/EE 6:1) konnte das Produkt (**(S)-99b**) (266 mg, 0.96 mmol, 56%) als gelbes Öl gewonnen werden.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.37 (m, 2 H, Ar-H), 7.32 (m, 2 H, Ar-H), 7.25 (m, 1 H, Ar-H), 6.65 (dd,  $J = 15.9, 1.1$  Hz, 1 H, 7-CH), 6.20 (ddd,  $J = 16.0, 6.1, 1.9$  Hz, 1 H, 6-CH), 4.79 (m, 1 H, 5-CH), 4.20 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2 H, OEt), 3.56 (q,  $J = 7.1$  Hz, 1 H, 2-CH), 2.88 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.37 (m, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>), 1.27 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, OEt) ppm.

$R_f$  (Hex/EE 6:1): 0.14.

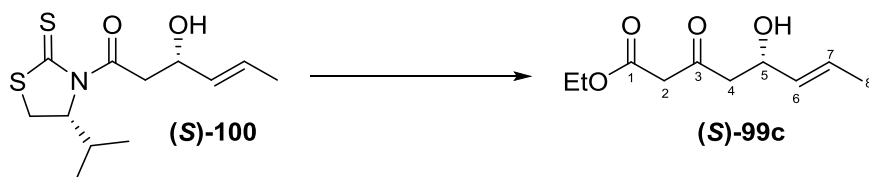
**Ethyl-(*R,E*)-5-hydroxy-3-oxo-7-phenylhept-6-enoat ((*R*)-99a)**

Aldolprodukt (**(*R*)-127**) (500 mg, 1.49 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (3.7 mL) gelöst, Kaliumethylmalonat **129** (507 mg, 2.98 mmol, 2 Äq.) und  $\text{MgCl}_2$  (142 mg, 1.49 mmol, 1 Äq.) zugegeben und die resultierende Suspension für 30 min stark gerührt. Anschließend wurde Imidazol (101 mg, 1.49 mmol, 1 Äq.) zugegeben und über Nacht weiter stark gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit EtOAc verdünnt und mit 0.5 M HCl gewaschen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit 0.5 M  $\text{NaHCO}_3$  gewaschen. Es wurde dreimal mit EtOAc reextrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 6:1→3:1) wurde Produkt (**(*R*)-99a**) (158 mg, 0.60 mmol, 40%) erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.37 (m, 2 H, Ar-H), 7.32 (m, 2 H, Ar-H), 7.25 (m, 1 H, Ar-H), 6.65 (dd,  $J = 16.1, 1.3$  Hz, 1 H, 7-CH), 6.20 (dd,  $J = 15.9, 6.1$  Hz, 1 H, 6-CH), 4.80 (m, 1 H, 5-CH), 4.21 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2 H, OEt), 3.51 (s, 2 H, 2- $\text{CH}_2$ ), 2.88 (m, 2 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.28 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, OEt) ppm.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +30.8 ( $c = 0.4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 6:1): 0.10.

**Ethyl-(*S,E*)-5-hydroxy-3-oxooct-6-enoat ((*S*)-99c)**

Aldolprodukt (**(*S*)-100**) (66 mg, 241  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) wurde in THF (610  $\mu\text{L}$ ) gelöst, Kaliumethylmalonat **129** (82 mg, 482  $\mu\text{mol}$ , 2 Äq.) und  $\text{MgCl}_2$  (23 mg, 241  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) zugegeben und die so erhaltene Suspension stark gerührt. Nach 30 min wurde Imidazol (16 mg, 241  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 20 h hatte sich die anfänglich intensive Gelbfärbung der Lösung entfärbt. Die Lösung wurde mit EtOAc verdünnt, mit 0.5 M HCl gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 0.5 M  $\text{NaHCO}_3$  gewaschen und die wässrige

Phase dreimal mit EtOAc reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 5:1) konnte das Produkt **(S)-99c** (39 mg, 195  $\mu$ mol, 81%) als klares Öl gewonnen werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.73 (m, 1 H, 6-CH), 5.49 (m, 1 H, 7-CH), 4.54 (m, 5-CH), 4.20 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2 H, OEt), 3.48 (s, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 2.76 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.69 (m, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>), 1.28 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, OEt) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  203.0 (q, 3-C), 166.9 (q, 1-C), 131.6 (t, 6-CH), 127.6 (t, 7-CH), 68.5 (t, 5-CH), 61.5 (s, OEt), 50.0 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 49.6 (s, 2-CH<sub>2</sub>), 17.6 (p, 8-CH<sub>3</sub>), 14.1 (p, OEt) ppm.

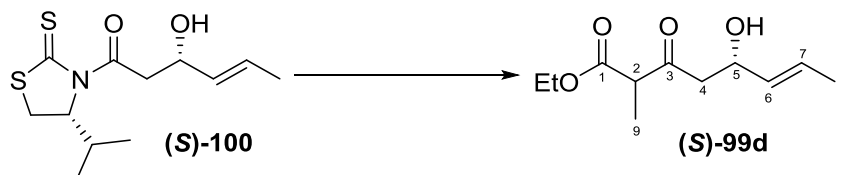
**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_3$   $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ : ber. 183.1016 gef. 183.1015.

**$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$** : -20.9 ( $c = 0.6$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

**$R_f$**  (PE/EE 4:1): 0.13.

*Notiz:* Nur die analytischen Daten für das Haupttautomer sind angegeben.

#### Ethyl-(5*S,E*)-5-hydroxy-2-methyl-3-oxooct-6-enoat ((*S*)-99d)

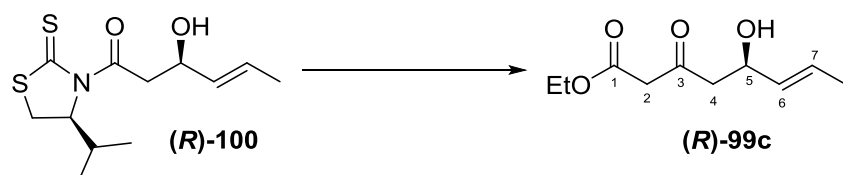


Aldolprodukt **(S)-100** (411 mg, 1.51 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (3.76 mL) gelöst, Kalium-3-ethoxy-2-methyl-3-oxopropanoat **130** (555 mg, 3.01 mmol, 2 Äq.) und  $\text{MgCl}_2$  (143 mg, 1.51 mmol, 1 Äq.) zugegeben und die so erhaltene Suspension stark gerührt. Nach 30 min wurde Imidazol (103 mg, 1.51 mmol, 1 Äq.) zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 20 h hatte sich die anfänglich intensive Gelbfärbung der Lösung entfärbt. Die Lösung wurde mit EtOAc verdünnt, mit 0.5 M HCl gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 0.5 M  $\text{NaHCO}_3$  gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 5:1) konnte das Produkt **(S)-99d** (166 mg, 0.77 mmol, 52%) als Diastereomerengemisch in Form eines klaren Öls gewonnen werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.73 (dq,  $J = 15.4, 6.6, 0.9$  Hz, 1 H, 7-CH), 5.48 (m, 1 H, 6 H), 4.53 (m, 1 H, 5-CH), 4.19 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2 H, OEt), 3.53, 3.53 (q,  $J = 7.2$  Hz, 1 H, 2-CH), 2.75 (m, 2 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.69 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, 8- $\text{CH}_3$ ), 1.35, 1.34 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, 9- $\text{CH}_3$ ), 1.27 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3 H, OEt) ppm.

$R_f$  (PE/EE 4:1): 0.14.

**Ethyl-(*R,E*)-5-hydroxy-3-oxooct-6-enoat ((*R*)-99c)**



Aldolprodukt (**(*R*)-100**) (1.60 g, 5.85 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (15 mL) gelöst, Kaliumethylmalonat **129** (2.20 g, 12.9 mmol, 2.2 Äq.) und  $\text{MgCl}_2$  (612 mg, 6.44 mmol, 1.1 Äq.) zugegeben und die so erhaltene Suspension stark gerührt. Nach 45 min wurde Imidazol (438 mg, 6.44 mmol, 1.1 Äq.) zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 65 h hatte sich die anfänglich intensive Gelbfärbung der Lösung entfärbt. Die Lösung wurde mit EtOAc verdünnt, mit 0.5 M HCl gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 0.5 M  $\text{NaHCO}_3$  gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/EE 5:1) konnte das Produkt (**(*R*)-99c**) (989 mg, 4.94 mmol, 84%) als klares Öl gewonnen werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.73 (m, 1 H, 6-CH), 5.49 (m, 1 H, 7-CH), 4.54 (m, 5-CH), 4.20 (m, 2 H, OEt), 3.48 (s, 2 H, 2- $\text{CH}_2$ ), 2.76 (m, 2 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.69 (m, 3 H, 8- $\text{CH}_3$ ), 1.28 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, OEt) ppm.

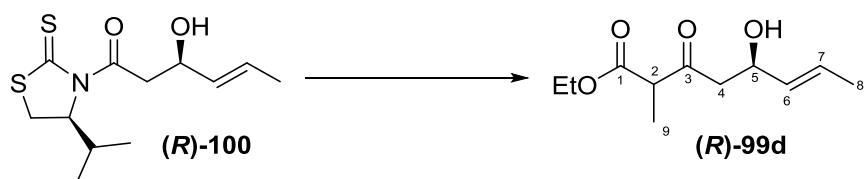
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  203.0 (q, 3-C), 166.9 (q, 1-C), 131.6 (t, 6-CH), 127.6 (t, 7-CH), 68.5 (t, 5-CH), 61.5 (s, OEt), 50.0 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 49.6 (s, 2- $\text{CH}_2$ ), 17.6 (p, 8- $\text{CH}_3$ ), 14.1 (p, OEt) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_3$   $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ : ber. 183.1016 gef. 183.1015.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +19.5 ( $c = 1.2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 4:1): 0.13.

*Notiz:* Nur die analytischen Daten für das Haupttautomer sind angegeben.

**Ethyl-(5*R,E*)-5-hydroxy-2-methyl-3-oxooct-6-enoat ((*R*)-**99d**)**

Aldolprodukt (**R**)-**100** (1.09 g, 3.97 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (10 mL) gelöst, Kalium-3-ethoxy-2-methyl-3-oxopropanoat **130** (1.61 g, 8.74 mmol, 2.2 Äq.) und  $\text{MgCl}_2$  (415 mg, 4.37 mmol, 1.1 Äq.) zugegeben und die so erhaltene Suspension stark gerührt. Nach 45 min wurde Imidazol (297 mg, 4.37 mmol, 1.1 Äq.) zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 67 h hatte sich die anfänglich intensive Gelbfärbung der Lösung entfärbt. Die Lösung wurde mit EtOAc verdünnt, mit 0.5 M HCl gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 0.5 M  $\text{NaHCO}_3$  gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/EE 6:1) konnte das Produkt (**R**)-**99d** (850 mg, 3.97 mmol, quant.) als Diastereomerengemisch in Form eines klaren Öls gewonnen werden.

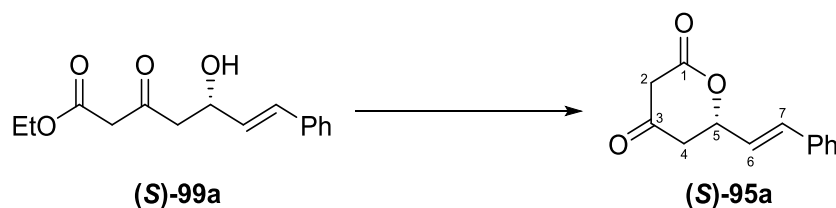
**$^1\text{H}$ -NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.73 (dq,  $J = 15.4, 6.6, 0.9$  Hz, 1 H, 7-CH), 5.48 (m 1 H, 6 H), 4.53 (m, 1 H, 5-CH), 4.19 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2 H, OEt), 3.53, 3.53 (q,  $J = 7.2$  Hz, 1 H, 2-CH), 2.75 (m, 2 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.69 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, 8- $\text{CH}_3$ ), 1.35, 1.34 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, 9- $\text{CH}_3$ ), 1.27 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3 H, OEt) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  206.3, 206.3 (q, 3-C), 170.4, 170.3 (q, 1-C), 131.9, 131.8 (t, 6-CH), 127.6, 127.5 (t, 7-CH), 68.7, 68.6 (t, 5-CH), 61.6, 61.6 (s, OEt), 53.6, 53.6 (t, 2-CH), 48.3, 48.1 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 17.8 (p, 8- $\text{CH}_3$ ), 14.2 (p, OEt), 12.7, 12.6 (p, 9- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{O}_3$   $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ : ber. 197.1172 gef. 197.1171.

**$R_f$**  (PE/EE 4:1): 0.20.

*Notiz:* Aufgrund von Keto-Enol-Tautomerie und der Instabilität der Verbindung bei Raumtemperatur konnte kein sauberes  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum aufgenommen werden.

**(S,E)-6-Styryldihydro-2H-pyran-2,4(3H)-dion ((S)-95a)**

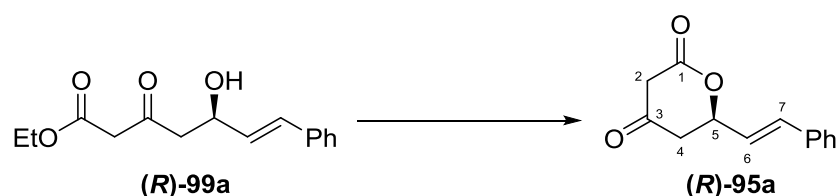
Ester **(S)-99a** (170 mg, 0.65 mmol, 1 Äq.) wurde in MeOH (3.24 mL) gelöst und  $K_2CO_3$  (179 mg, 1.30 mmol, 2 Äq.) zugegeben. Nach 2 h wurde die Lösung filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Produkt **(S)-95a** (130 mg, 0.60 mmol, 92%) wurde als gelboranger Feststoff erhalten.

**$^1H$ -NMR** (500 MHz, MeOD):  $\delta$  7.44 (m, 2 H, Ph), 7.32 (m, 2 H, Ph), 7.24 (m, 1 H, Ph), 6.74 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1 H, 7-CH), 6.39 (dd,  $J = 16.0, 6.5$  Hz, 1 H, 6-CH), 4.97 (m, 1 H, 5-CH), 3.35 (s, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 2.47 (dd,  $J = 16.7, 11.6$  Hz, 4-CH<sub>2</sub>), 2.32 (dd,  $J = 16.5, 4.1$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $C_{13}H_{13}O_3$   $[M+H]^+$ : ber. 217.0859 gef. 217.0867.

$[\alpha]_D^{20}$ : -47.3 ( $c = 1.0$ , MeOH).

$R_f$  (PE/EE 2.3:1): 0.16.

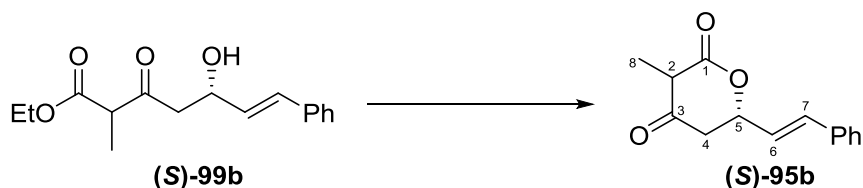
**(R,E)-6-Styryldihydro-2H-pyran-2,4(3H)-dion ((R)-95a)**

Ester **(R)-99a** (155 mg, 0.59 mmol, 1 Äq.) wurde in 2 M KOH (2.5 mL, 5.00 mmol, 8.5 Äq.) für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Bei 0 °C wurde 1 M HCl zugegeben, bis pH 1 erreicht wurde. Es wurde dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde Produkt **(R)-95a** (98 mg, 0.45 mmol, 77%) erhalten.

**$^1H$ -NMR** (500 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.42-7.30 (m, 5 H, Ph), , 6.77 (dd,  $J = 16.1, 1.0$  Hz, 1 H, 7-CH), 6.24 (dd,  $J = 15.9, 6.0$  Hz, 1 H, 6-CH), 5.35 (m, 1 H, 5-CH), 3.56 (m, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 2.89 (dd,  $J = 18.2, 3.6$  Hz, 4-CH<sub>2</sub>), 2.75 (dd,  $J = 18.1, 9.7$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $C_{13}H_{13}O_3$   $[M+H]^+$ : ber. 217.0859 gef. 217.0860.

$[\alpha]_D^{20}$ : +46.7 ( $c = 0.2$ ,  $CH_2Cl_2$ ).

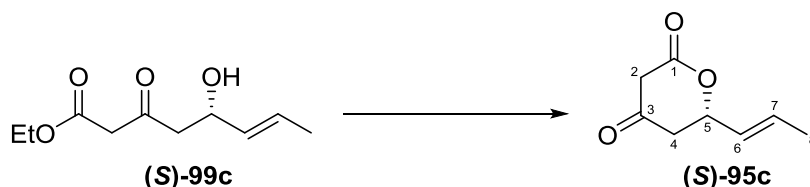
**(6*S*)-3-Methyl-6-((*E*)-styryl)dihydro-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dion ((*S*)-95b)**

Ester (**(*S*)-99b**) (95 mg, 0.36 mmol, 1 Äq.) wurde in 2 M KOH (1.81 mL) über Nacht gerührt und dann auf 0 °C abgekühlt, bevor 1 M HCl bis pH 1 zugegeben wurde. Es wurde dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde Produkt (**(*S*)-95b**) (78 mg, 0.36 mmol, 99%) als gelber Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.43-7.30 (m, 5 H, Ph), 6.81 (d, *J* = 15.9 Hz, 1 H, 7-CH), 6.23 (dd, *J* = 16.0, 6.5 Hz, 1 H, 6-CH), 5.38 (m, 1 H, 5-CH), 3.65 (q, *J* = 6.7 Hz, 1 H, 2-CH), 2.90 (dd, *J* = 19.0, 3.1 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.67 (dd, *J* = 18.9, 11.7 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.41 (d, *J* = 6.7 Hz, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber. 231.1016 gef. 231.1022.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -53.0 (c = 1.0, MeOH).

**(*S,E*)-6-(Prop-1-en-1-yl)dihydro-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dion ((*S*)-95c)**

Ketoester (**(*S*)-99c**) (142 mg, 0.71 mmol, 1 Äq.) wurde in MeOH (4.2 mL) gelöst, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (196 mg, 1.42 mmol, 2 Äq.) zugegeben und 40 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde der Rückstand in EtOAc aufgenommen und mit 1 M HCl gewaschen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Lacton (**(*S*)-95c**) (41.2 mg, 0.27 mmol, 38%) wurde als gelblicher Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.91 (m, 1 H, 6-CH), 5.59 (m, 1 H, 7-CH), 5.10 (m, 5-CH), 3.50 (m, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 2.77 (dd, *J* = 18.3, 3.6 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.63 (dd, *J* = 18.3, 9.6 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.78 (m, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>) ppm.



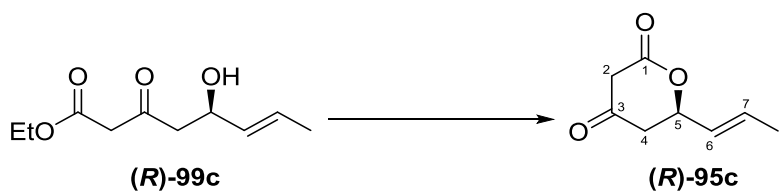
**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  199.8 (q, 3-C), 167.0 (q, 1-C), 131.9 (t, 6-CH), 126.5 (7-CH), 75.49 (t, 5-CH), 47.0 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 43.4 (s, 2- $\text{CH}_2$ ), 17.8 (p, 8- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber. 155.0703 gef. 155.0700.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : -44.6 ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 2:1): 0.20.

**(*R,E*)-6-(Prop-1-en-1-yl)dihydro-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dion ((*R*)-95c)**



Ketoester (**(*R*)-99c**) (1.18 g, 5.88 mmol, 1 Äq.) wurde in MeOH (35 mL) gelöst,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1.63 g, 11.7 mmol, 2 Äq.) zugegeben und 40 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde der Rückstand in EtOAc aufgenommen und mit 1 M HCl gewaschen. Die wässrige Phase wurde mehrfach mit EtOAc extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Lacton (**(*R*)-95c**) (612 mg, 3.97 mmol, 68%) wurde als gelblicher Feststoff erhalten

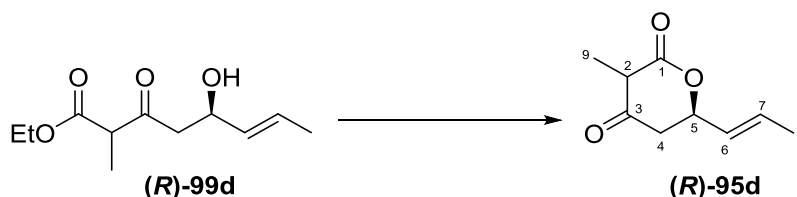
**$^1\text{H}$ -NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.91 (m, 1 H, 6-CH), 5.59 (m, 1 H, 7-CH), 5.10 (m, 5-CH), 3.50 (m, 2 H, 2- $\text{CH}_2$ ), 2.77 (dd,  $J = 18.2, 3.5$  Hz, 1 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 2.63 (dd,  $J = 18.0, 9.6$  Hz, 1 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.78 (m, 3 H, 8- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  199.8 (q, 3-C), 167.0 (q, 1-C), 131.9 (t, 6-CH), 126.5 (7-CH), 75.5 (t, 5-CH), 47.0 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 43.4 (s, 2- $\text{CH}_2$ ), 17.8 (p, 8- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber. 155.0703 gef. 155.0708.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +44.2 ( $c = 0.9$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 2:1): 0.17.

**(6*R*)-3-Methyl-6-((*E*)-prop-1-en-1-yl)dihydro-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dion ((*R*)-95d)**

Ketoester (**(*R*)-99d**) (147 mg, 0.69 mmol, 1 Äq.) wurde in MeOH (4 mL) bei Raumtemperatur gelöst und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (190 mg, 1.37 mmol, 2 Äq.) zugegeben. Nach 1.5 h wurde MeOH unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 1 M HCl gelöst, die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde Lacton (**(*R*)-95d**) (112 mg, 0.67 mmol, 97%) gewonnen.

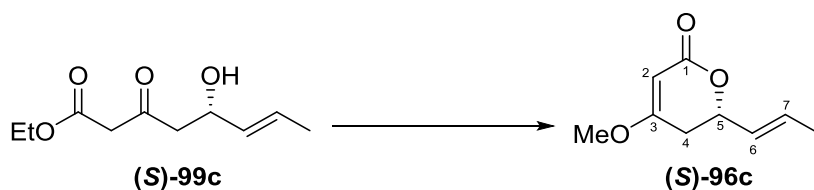
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.94 (dq, *J* = 15.3, 6.6, 1.1 Hz, 1 H, 7-CH), 5.58 (ddq, *J* = 15.3, 6.9, 1.7 Hz, 1 H, 6-CH), 5.14 (m, 1 H, 5-CH), 3.58 (q, *J* = 6.6 Hz, 1 H, 2-CH), 2.77 (dd, *J* = 19.0, 3.0 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.56 (dd, *J* = 19.0, 11.7 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.79 (ddd, *J* = 6.6, 1.7, 0.6 Hz, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>), 1.37 (d, *J* = 6.6 Hz, 3 H, 9-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 201.4 (q, 3-C), 169.7 (q, 1-C), 132.2 (t, 6-CH), 126.5 (t, 7-CH), 74.8 (t, 5-CH), 51.9 (t, 2-CH), 43.5 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 17.9 (p, 8-CH<sub>3</sub>), 8.0 (p, 9-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber. 169.0859 gef. 169.0855.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +64.1 (*c* = 1.0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1): 0.32.

**(*S,E*)-4-Methoxy-6-(prop-1-en-1-yl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-on ((*S*)-96c)**

Ketoester (**(*S*)-99c**) (340 mg, 1.70 mmol, 1 Äq.) wurde in MeOH (10 mL) gelöst und bei Raumtemperatur wurde K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (470 mg, 3.40 mmol, 2 Äq.) zugegeben. Nach 2 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Aceton (10 mL) aufgenommen. Nach Zugabe von Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (322 µL, 3.40 mmol, 2 Äq.) wurde für 24 h gerührt, bevor die Reaktionslösung durch Zugabe von EtOAc verdünnt wurde. Es wurde mit 0.1 M HCl gewaschen, die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels

unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 2:1) wurde Produkt (**S**)-**96c** (237 mg, 1.41 mmol, 83%) gewonnen.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.85 (m, 1 H, 6-CH), 5.60 (m, 1 H, 7-CH), 5.15 (m, 1 H, 2-CH), 4.82 (m, 1 H, 5-CH), 3.74 (s, 3 H, OMe), 2.56 (ddd, *J* = 17.1, 11.1, 1.4 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.41 (dd, *J* = 17.1, 4.1 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.74 (m, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>) ppm.

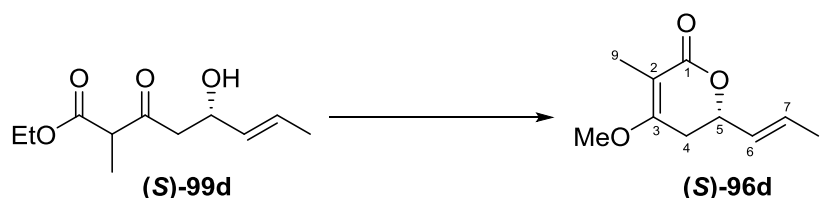
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172.4 (q, 3-C), 167.0 (q, 1-C), 130.7 (t, 6-CH), 127.8 (t, 7-CH), 90.47 (t, 2-CH), 76.2 (t, 5-CH), 56.0 (p, OMe), 33.2 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 17.7 (p, 8-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber. 169.0859 gef. 169.0864.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -78.2 (c = 1.0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1): 0.04.

**(S,E)-4-Methoxy-3-methyl-6-(prop-1-en-1-yl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on ((S)-96d)**



Ketoester (**S**)-**99d** (37 mg, 173 μmol, 1 Äq.) wurde in MeOH (1 mL) bei Raumtemperatur gelöst und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (48 mg, 345 μmol, 2 Äq.) zugegeben. Nach 1.5 h wurde MeOH unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Aceton (1 mL) aufgenommen, Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (33 μL, 345 μmol, 2 Äq.) zugegeben und bei Raumtemperatur für 40 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit EtOAc verdünnt, mit 0.1 M HCl gewaschen, die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 2:1) wurde Lacton (**S**)-**96d** (29 mg, 159 μmol, 92%) gewonnen.

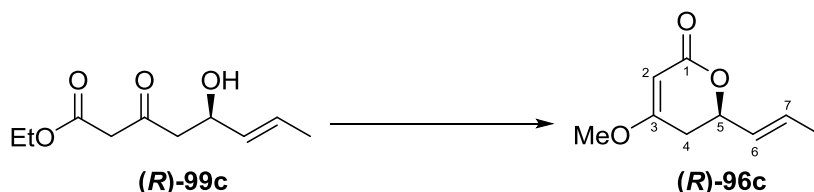
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.86 (m, 1 H, 6-CH), 5.62 (m, 1 H, 7-CH), 4.74 (m, 1 H, 5-CH), 3.78 (s, 3 H, OMe), 2.65-2.51 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.78 (m, 3 H, 9-CH<sub>3</sub>), 1.74 (m, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 168.2 (q, 3-C), 165.0 (q, 1-C), 130.6 (t, 6-CH), 128.1 (t, 7-CH), 103.6 (q, 2-C), 75.0 (t, 5-CH), 55.4 (p, OMe), 29.6 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 17.7 (p, 8-CH<sub>3</sub>), 8.8 (9-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $C_{10}H_{14}O_3Na$   $[M+Na]^+$ : ber. 205.0835 gef. 205.0836,  $C_{10}H_{15}O_3$   $[M+H]^+$ : ber. 183.1016 gef. 183.1015.

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1): 0.37.

**(*R,E*)-4-Methoxy-6-(prop-1-en-1-yl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-on ((*R*)-96c)**



Ketoester (**(*R*)-99c**) (965 mg, 4.83 mmol, 1 Äq.) wurde in MeOH (25 mL) bei Raumtemperatur gelöst und  $K_2CO_3$  (1.34 g, 9.67 mmol, 2 Äq.) zugegeben. Nach 2 h wurde MeOH unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Aceton (25 mL) aufgenommen,  $Me_2SO_4$  (917  $\mu$ L, 9.67 mmol, 2 Äq.) zugegeben und bei Raumtemperatur für 24 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit EtOAc verdünnt, mit 0.1 M HCl gewaschen, die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 1.5:1) wurde Lacton (**(*R*)-96c**) (780 mg, 4.64 mmol, 96%) gewonnen. Durch Umkehrphasen-Säulenchromatographie (C8-RP, 12% C, 40-63  $\mu$ m, ACROS ORGANICS; MeOH/ $H_2O$ , Gradient: 50-80% MeOH) wurde eine Probe in analytischer Reinheit erhalten (Rückgewinnungsrate: 80%; isolierte Ausbeute: 77%).

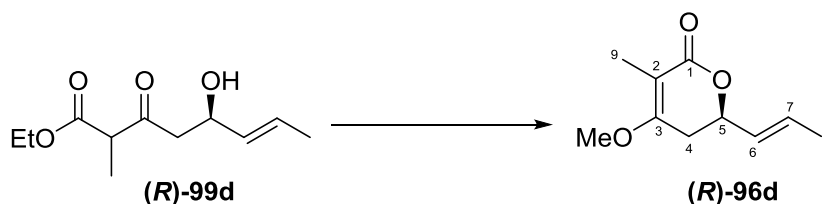
**$^1H$ -NMR** (500 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  5.85 (m, 1 H, 6-CH), 5.60 (m, 1 H, 7-CH), 5.15 (m, 1 H, 2-CH), 4.82 (m, 1 H, 5-CH), 3.74 (s, 3 H, OMe), 2.56 (ddd,  $J = 17.1, 11.0, 1.4$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.41 (dd,  $J = 17.2, 4.1$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.74 (m, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>) ppm.

**$^{13}C$ -NMR** (125 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  172.4 (q, 3-C), 167.0 (q, 1-C), 130.7 (t, 6-CH), 127.8 (t, 7-CH), 90.5 (t, 2-CH), 76.2 (t, 5-CH), 56.0 (p, OMe), 33.2 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 17.7 (p, 8-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $C_9H_{13}O_3$   $[M+H]^+$ : ber. 169.0859 gef. 169.0864.

**$[\alpha]_D^{20}$** : +73.5 ( $c = 1.0$ ,  $CH_2Cl_2$ ).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1): 0.24.

**(*R,E*)-4-Methoxy-3-methyl-6-(prop-1-en-1-yl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-on ((*R*)-96d)**

Ketoester (**(*R*)-99d**) (630 mg, 2.94 mmol, 1 Äq.) wurde in MeOH (17 mL) bei Raumtemperatur gelöst und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (812 mg, 5.88 mmol, 2 Äq.) zugegeben. Nach 1.5 h wurde MeOH unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Aceton (17 mL) aufgenommen, Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (560 µL 5.88 mmol, 2 Äq.) zugegeben und bei Raumtemperatur für 38 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit EtOAc verdünnt, mit 0.1 M HCl gewaschen, die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 2:1) wurde Lacton (**(*R*)-96d**) (501 mg, 2.75 mmol, 94%) gewonnen.

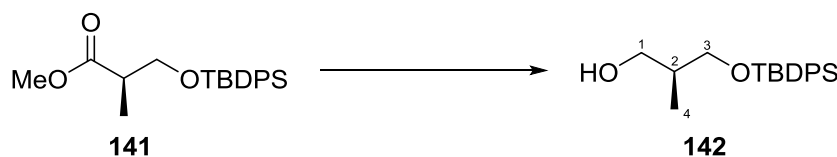
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.87 (dq, *J* = 15.4, 6.5, 1.0 Hz, 1 H, 7-CH), 5.62 (ddq, *J* = 15.3, 7.0, 1.7 Hz, 1 H, 6-CH), 4.74 (m, 1 H, 5-CH), 3.78 (s, 3 H, OMe), 2.62 (ddq, *J* = 16.7, 4.3, 1.2 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.55 (ddq, *J* = 16.9, 11.0, 1.9 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.78 (dd, *J* = 1.9, 1.2 Hz, 3 H, 9-CH<sub>3</sub>), 1.74 (ddd, *J* = 6.6, 1.6, 0.7 Hz, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 168.4 (q, 3-C), 165.1 (q, 1-C), 130.8 (t, 7-CH), 128.3 (t, 6-CH), 103.8 (q, 2-C), 75.2 (t, 5-CH), 55.6 (p, OMe), 29.8 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 17.9 (p, 8-CH<sub>3</sub>), 9.0 (p, 9-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber. 183.1016 gef. 183.1012.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +50.4 (c = 1.0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1): 0.34.

**(*S*)-3-((*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-2-methylpropanol (142)**

Ester **141** (3.00 g, 8.41 mmol, 1 Äq.) wurde in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (35 mL) bei -78 °C gelöst und tropfenweise mit DIBAL-H (18.5 mL, 18.5 mmol, 2.2 Äq., 1 M in Hexan) versetzt. Die Reaktion wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und nach 3 h wurde ges. K-Na-

Tartrat-Lösung (100 mL) hinzugegeben. Es wurde für 15 h gerührt bevor, die organische Phase abgetrennt wurde. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (Hex/EE 9:1). Alkohol **142** (2.53 g, 7.70 mmol, 92%) konnte als farbloses Öl gewonnen werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.68 (m, 4 H, OTBDPS), 7.47-7.38 (m, 6 H, OTBDPS), 3.73 (dd,  $J = 10.1, 4.4$  Hz, 1 H, 3- $\text{CH}_2$ ), 3.67 (m, 2 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.59 (dd,  $J = 10.1, 7.9$  Hz, 1 H, 3- $\text{CH}_2$ ), 2.00 (m, 1 H, 2-CH), 1.06 (m, 9 H, OTBDPS), 0.83 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3 H, 4- $\text{CH}_3$ ) ppm.

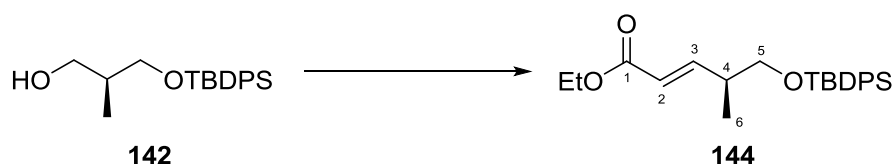
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  135.7 (t, OTBDPS), 135.7 (t, OTBDPS), 133.3, 133.2 (q, OTBDPS), 129.9 (t, OTBDPS), 127.9 (t, OTBDPS), 69.0 (s, 3- $\text{CH}_2$ ), 67.9 (s, 1- $\text{CH}_2$ ), 37.4 (t, 2-CH), 27.0 (p, OTBDPS), 19.3 (q, OTBDPS), 13.3 (p, 4- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 351.1756 gef. 351.1760.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : -3.6 ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 8:1): 0.53.

#### Ethyl-(*S,E*)-5-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-4-methylpent-2-enoat (**144**)



Zu einer Lösung von Oxalylchlorid (2.09 mL, 24.4 mmol, 2 Äq.) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (55 mL) wurde DMSO (3.46 mL, 48.8 mmol, 4 Äq.) langsam bei  $-78^\circ\text{C}$  zugetropft. Nach 30 min rühren wurde eine Lösung von Alkohol **142** (4.00 g, 12.2 mmol, 1 Äq.) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 mL) zugegeben. Nach einer Stunde rühren wurde DIPEA (12.8 mL, 73.1 mmol, 6 Äq.) tropfenweise zugegeben und eine weitere Stunde bei  $-78^\circ\text{C}$  gerührt, bevor das Reaktionsgemisch über 2 h auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung beendet. Es wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufarbeitung in die nächste Stufe eingesetzt.

Der erhaltene Aldehyd **143** wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (55 mL) gelöst und Ethyl-2-(triphenylphosphoranyliden)acetat (8.49 g, 24.4 mmol, 2 Äq.) hinzugegeben. Es wurde für

drei Tage bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 8:1) konnte Produkt **144** (4.76 g, 12.0 mmol, 98% über 2 Stufen) als farbloses Öl gewonnen werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.66-7.63 (m, 4 H, OTBDPS), 7.45-7.35 (m, 6 H, OTBDPS), 6.96 (dd,  $J = 16.0, 7.2$  Hz, 1 H, 3-CH), 5.83 (dd,  $J = 16.4, 0.7$  Hz, 1 H, 2-CH), 4.19 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2 H, OEt), 3.58 (ddd,  $J = 13.4, 9.0, 5.4$  Hz, 2 H, 5- $\text{CH}_2$ ), 2.56 (m, 1 H, 4-CH), 1.29 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, OEt), 1.07 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3 H, 6- $\text{CH}_3$ ), 1.05 (m, 9 H, OTBDPS) ppm.

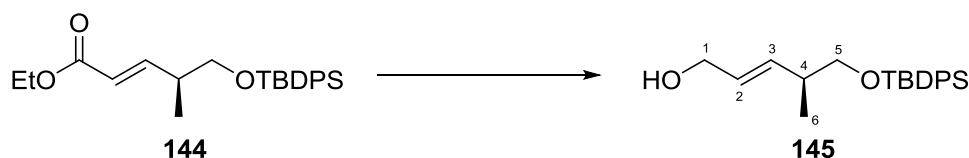
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  166.8 (q, 1-C), 151.5 (t, 3-CH), 135.8 (t, OTBDPS), 135.7 (t, OTBDPS), 133.7, 133.7 (q, OTBDPS), 129.8 (t, OTBDPS), 127.8 (t, OTBDPS), 121.2 (t, 2-CH), 67.7 (s, 5- $\text{CH}_2$ ), 60.3 (s, OEt), 39.2 (t, 4-CH), 27.0 (p, OTBDPS), 19.4 (q, OTBDPS), 15.7 (p, 6- $\text{CH}_3$ ), 14.4 (p, OEt) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 419.2018 gef. 419.2027.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : -13.4 ( $c = 1.2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 5:1): 0.86.

**(*S,E*)-5-((*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-4-methylpent-2-enol (**145**)**



Ester **144** (4.76 g, 12.0 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (250 mL) gelöst und auf  $-78^\circ\text{C}$  gekühlt. Auf  $0^\circ\text{C}$  vorgekühltes DIBAL-H (34.6 mL, 34.6 mmol, 2.9 Äq., 1 M in Hexan) wurde langsam zu getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde 2 h bei  $-78^\circ\text{C}$  und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde ges. K-Na-Tartrat-Lösung zusammen mit  $\text{Et}_2\text{O}$  hinzugegeben und für 48 h gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit  $\text{Et}_2\text{O}$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 8:1→4:1) konnte Alkohol **145** (4.19 g, 11.8 mmol, 98%) als farbloses, zähflüssiges Öl isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.65 (m, 4 H, OTBDPS), 7.45-7.35 (m, 6 H, OTBDPS), 5.63 (m, 2 H, 2-CH, 3-CH), 4.07 (m, 2 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.53 (ddd,  $J = 23.0, 9.7, 6.5$  Hz, 2 H, 5- $\text{CH}_2$ ), 2.41 (m, 1 H, 4-CH), 1.05 (m, 9 H, OTBDPS), 1.03 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3 H, 6- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  135.8 (t, OTBDPS), 135.7 (t, 3-CH), 134.0 (q, OTBDPS), 129.7 (t, OTBDPS), 128.9 (t, 2-CH), 127.7 (t, OTBDPS), 68.6 (s, 5- $\text{CH}_2$ ), 64.0 (s, 1- $\text{CH}_2$ ), 39.1 (t, 4-CH), 27.0 (p, OTBDPS), 19.5 (q, OTBDPS), 16.6 (p, 6- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_2\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 377.1913 gef. 377.1924.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : -4.3 ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 6:1): 0.47.

**(*S,E*)-5-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-4-methylpent-2-enal (**146**)**

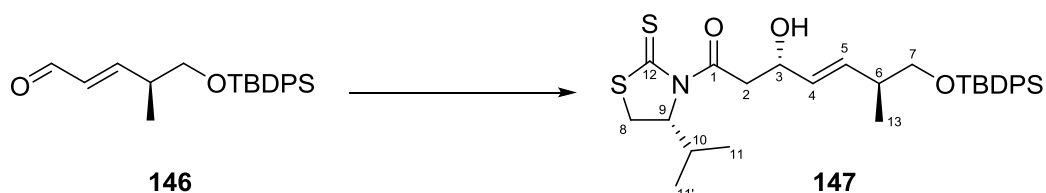


Alkohol **145** (1.10 g, 3.10 mmol, 1 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (16 mL) gelöst und  $\text{MnO}_2$  (8 g, 92.02 mmol, 30 Äq.) hinzugegeben. Nach 4 h wurde das Reaktionsgemisch über Kieselgur filtriert, der Filterkuchen mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gewaschen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Aldehyd **146** (1.09 g, 3.09 mmol, 99%) wurde ohne weitere Reinigung in die nächste Stufe eingesetzt werden.

**$^1\text{H}$ -NMR** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.48 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1 H, 1-CH), 7.64 (m, 4 H, OTBDPS), 7.48-7.33 (m, 6 H, OTBDPS), 6.82 (dd,  $J = 15.8, 7.0$  Hz, 1 H, 3-CH), 6.12 (ddd,  $J = 15.8, 7.8, 1.3$  Hz, 1 H, 2-CH), 3.65 (m, 2 H, 5- $\text{CH}_2$ ), 2.68 (m, 1 H, 4-CH), 1.10 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3 H, 6- $\text{CH}_3$ ), 1.05 (m, 9 H, OTBDPS) ppm.

$R_f$  (PE/EE 6:1): 0.57.

**(3*S*,6*S*,*E*)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-3-hydroxy-1-((*R*)-4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)-6-methylhept-4-enon (**147**)**



Das (*R*)-NAGAO-Auxiliar (**R**)-**101** (192 mg, 0.94 mmol, 1 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (9 mL) gelöst und auf  $-78^\circ\text{C}$  abgekühlt. Es wurde  $\text{TiCl}_4$  (0.94 mL, 0.94 mmol, 1 Äq., 1 M in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) hinzugegeben und nach 10 min rühren wurde DIPEA (200  $\mu\text{l}$ , 1.13 mmol, 1.2 Äq.) zugegeben und für 1 h bei  $-78^\circ\text{C}$  gerührt. Aldehyd **146** (300 mg, 0.85 mmol, 0.9 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 mL) zugegeben und 1 h bei  $-78^\circ\text{C}$  gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von



ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung (4 mL) beendet und auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 8:1→5:1) konnte das Aldolprodukt **147** (371 mg, 0.67 mmol, 79% und 40 mg, 0.07 mmol, 8%; *d.r.* 9.3:1) als gelbes Öl gewonnen werden.

**$^1\text{H}$ -NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.65 (m, 4 H, OTBDPS), 7.45-7.35 (m, 6 H, OTBDPS), 5.70 (ddd,  $J = 15.6, 6.9, 1.0$  Hz, 1 H, 5-CH), 5.55 (ddd,  $J = 15.4, 6.2, 1.0$  Hz, 1 H, 4-CH), 5.14 (m, 1 H, 9-CH), 4.61 (m, 1 H, 3-CH), 3.61-3.46 (m, 4 H, 2- $\text{CH}_2$ , 7- $\text{CH}_2$ , 8- $\text{CH}_2$ ), 3.30 (dd,  $J = 17.6, 9.0$  Hz, 1 H, 2- $\text{CH}_2$ ), 3.02 (dd,  $J = 11.6, 0.02$  Hz, 1 H, 8- $\text{CH}_2$ ), 2.64 (m, 1 H, OH), 2.45-2.31 (m, 2 H, 6-CH, 9-CH), 1.06 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3 H, 11- $\text{CH}_3$ ), 1.05 (m, 9 H, OTBDPS), 1.03 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, 13- $\text{CH}_3$ ), 0.98 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3 H, 11'- $\text{CH}_3$ ) ppm.

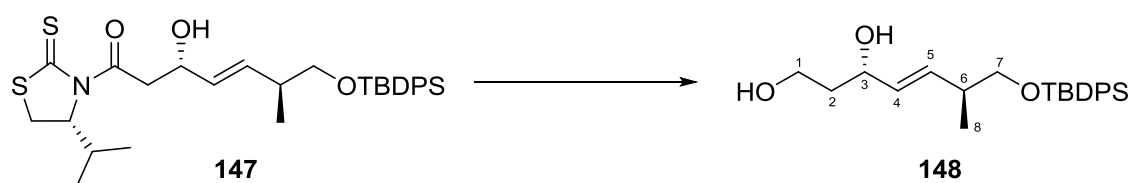
**$^{13}\text{C}$ -NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  203.0 (q, 12-C), 172.7 (q, 1-C), 135.8 (t, OTBDPS), 135.0 (t, 3-CH), 134.0, 134.0 (q, OTBDPS), 130.3 (t, 2-CH), 129.7 (t, OTBDPS), 127.8 (t, OTBDPS), 71.5 (t, 9-CH), 69.0 (t, 3-CH), 68.5 (s, 7- $\text{CH}_2$ ), 45.6 (s, 2- $\text{CH}_2$ ), 39.0 (t, 6-CH), 31.0 (t, 10-CH), 30.8 (s, 8- $\text{CH}_2$ ), 27.0 (p, OTBDPS), 19.5 (q, OTBDPS), 19.2 (p, 11- $\text{CH}_3$ ), 17.9 (p, 11'- $\text{CH}_3$ ), 16.5 (p, 13- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{NO}_3\text{S}_2\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 578.2195 gef. 578.2191.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : -170.7 ( $c = 1.3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 8:1): 0.26

**(3*S*,6*S*,*E*)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-6-methylhept-4-en-1,3-diol (**148**)**



Aldolprodukt **147** (1.30 g, 2.38 mmol, 1 Äq.) wurde  $\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$  (20:1, 26.3 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Nach langsamer Zugabe von  $\text{LiBH}_4$  (68.0 mg, 3.10 mmol, 1.3 Äq.) wurde für 18 h gerührt und dann die Reaktion durch Zugabe von 1 M  $\text{NaOH}$  (10 mL) beendet. Es wurde dreimal mit  $\text{Et}_2\text{O}$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 2:1) konnte Diol **148** (935 mg, 2.35 mmol, 99%) als farbloses, hochviskoses Öl gewonnen werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.67-7.63 (m, 4 H, OTBDPS), 7.45-7.35 (m, 6 H, OTBDPS), 5.63 (ddd, *J* = 15.6, 6.9, 0.5 Hz, 5-CH), 5.53 (ddd, *J* = 15.6, 6.4, 0.8 Hz, 1 H, 4-CH), 4.31 (q, 1 H, 3-CH), 3.82 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.54 (ddd, *J* = 20.6, 9.8, 6.4 Hz, 2 H, 7-CH<sub>2</sub>), 2.40 (m, 1 H, 6-CH), 1.78-1.73 (m, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 1.05 (m, 9 H, OTBDPS), 1.02 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>) ppm.

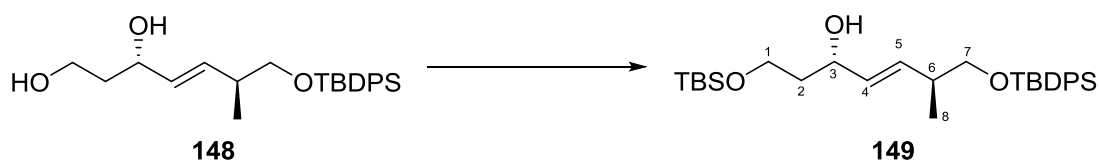
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 135.6 (t, OTBDPS), 134.5 (t, 5-CH), 133.8 (q, OTBDPS), 132.1 (t, 4-CH), 129.6 (t, OTBDPS), 127.6 (t, OTBDPS), 73.0 (t, 3-CH), 68.5 (s, 7-CH<sub>2</sub>), 61.3 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 38.9 (t, 6-CH), 38.6 (s, 2-CH<sub>2</sub>), 26.9 (p, OTBDPS), 19.3 (q, OTBDPS), 16.5 (p, 8-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup>: ber. 421.2175 gef. 421.2173.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -17.0 (c = 1.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 5:1): 0.08.

**(3*S*,6*S*,*E*)-1-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-7-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-6-methylhept-4-en-3-ol (149)**



Diol **148** (890 mg, 2.23 mmol, 1 Äq.) wurde in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL) gelöst und es wurden Imidazol (228 mg, 3.35 mmol, 1.5 Äq.) und TBSCl (404 mg, 2.68 mmol, 1.2 Äq) bei 0 °C zugegeben. Nach 10 min wurde die Reaktion auf Raumtemperatur erwärmt und für 1.5 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung beendet. Es wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 8:1) konnte der TBS-Ether **149** (1.00 g, 1.95 mmol, 87%) als farbloses Öl gewonnen werden.

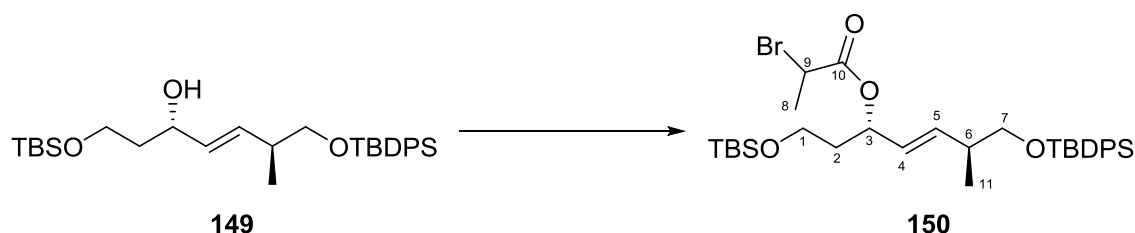
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.66 (m, 4 H, OTBDPS), 7.44-7.35 (m, 6 H, OTBDPS), 5.63 (ddd, *J* = 15.6, 6.8, 0.4 Hz, 1 H, 5-CH), 5.49 (ddd, *J* = 15.7, 6.1, 0.4 Hz, 1 H, 4-CH), 4.28 (q, *J* = 5.8 Hz, 1 H, 3-CH), 3.88-3.82 (m, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.80-3.74 (m, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.58 (dd, *J* = 9.7, 6.0 Hz, 1 H, 7-CH<sub>2</sub>), 3.47 (dd, *J* = 9.7, 7.0 Hz, 1 H, 7-CH<sub>2</sub>), 3.11 (bs, 1 H, OH), 2.40 (m, 1 H, 6-CH), 1.74-1.68 (m, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 1.06-1.02 (m, 12 H, OTBDPS, 8-CH<sub>3</sub>), 0.90-0.89 (m, 9 H, OTBS), 0.06 (s, 3 H, OTBS), 0.06 (s, 3 H, OTBS) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  135.8, 135.8 (t, OTBDPS), 134.1, 134.1 (q, OTBDPS), 133.6 (t, 5-CH), 132.3 (t, 4-CH), 129.7 (t, OTBDPS), 127.7 (t, OTBDPS), 72.4 (t, 3-CH), 68.7 (s, 7-CH<sub>2</sub>), 62.1 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 39.0 (t, 6-CH), 38.9 (s, 2-CH<sub>2</sub>), 27.0 (p, OTBDPS), 26.0 (p, OTBS), 19.5 (q, OTBDPS), 18.3 (q, OTBS), 16.7 (p, 8-CH<sub>3</sub>), -5.4, -5.4 (p, OTBS) ppm.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : -8.5 ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 6:1): 0.60.

**(3*S*,6*S*,*E*)-1-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-7-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-6-methylhept-4-en-3-bromoproanoat (**150**)**



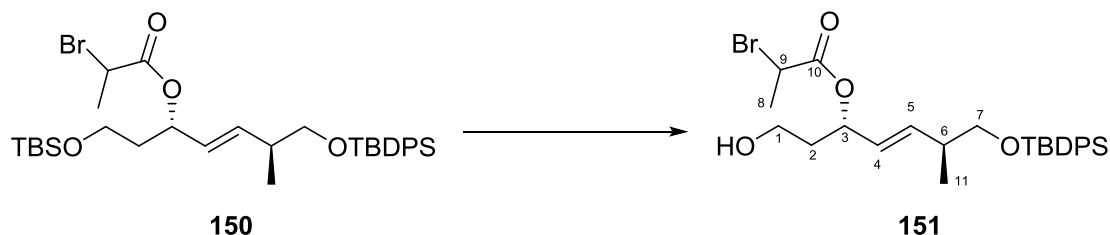
TBS-Ether **149** (766 mg, 1.50 mmol, 1 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (6.87 mL) gelöst und es wurden 2-Brompropionsäure (404  $\mu\text{L}$ , 4.96 mmol, 3.0 Äq.) und DMAP (146 mg, 1.20 mmol, 0.8 Äq) zugegeben. Die Reaktion wurde auf 0 °C abgekühlt und DIC (255  $\mu\text{L}$ , 1.65 mmol, 1.1 Äq.) zugeben. Es wurde für 5 min bei 0 °C gerührt und dann 40 min bei Raumtemperatur. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 30:1) konnte Brompropanoat **150** (960 mg, 1.48 mmol, 99%) als Diastereomerenmischung in Form eines farblosen Öls isoliert werden.

**$^1\text{H}$ -NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.65 (m, 4 H, OTBDPS), 7.45-7.35 (m, 6 H, OTBDPS), 5.74 (ddd,  $J = 15.2, 11.4, 7.2$  Hz, 1 H, 5-CH), 5.50-5.36 (m, 2 H, 4-CH, 3-CH), 4.31, 4.29 (q,  $J = 6.9$  Hz, 1 H, 9-CH), 3.64 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.50 (m, 2 H, 7-CH<sub>2</sub>), 2.40 (m, 1 H, 6-CH), 1.87 (m, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 1.78, 1.76 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>), 1.06-1.03 (m, 9 H, OTBDPS), 1.03-0.99 (m, 3 H, 11-CH<sub>3</sub>), 0.89-0.86 (m, 9 H, OTBS), 0.04-0.01 (m, 6 H, OTBS) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169.4, 169.2 (q, 10-C), 137.4, 137.3 (t, 5-CH), 135.8 (t, OTBDPS), 134.0 (q, OTBDPS), 129.7 (t, OTBDPS), 127.7 (t, OTBDPS), 127.4, 127.1 (t, 4-CH), 73.7, 73.7 (t, 3-CH), 68.5, 68.4 (s, 7-CH<sub>2</sub>), 59.1 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 40.9, 40.6 (t, 6-CH), 39.1 (t, 9-CH), 37.6 (s, 2-CH<sub>2</sub>), 27.0, 27.0 (p, OTBDPS), 26.1, 26.0 (p, OTBS), 21.8, 21.7 (p, 8-CH<sub>3</sub>), 19.4 (q, OTBDPS), 18.4 (q, OTBS), 16.5, 16.5 (p, 11-CH<sub>3</sub>), -5.2 (p, OTBS), -5.2 (p, OTBS) ppm.

$R_f$  (PE/EE 22:1): 0.52 und 0.59.

**(3*S*,6*S*,*E*)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-6-methylhept-4-en-1-ol-3-bromopropanoat (**151**)**



TBS-Ether **150** (100 mg, 154  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) wurde in MeOH (1.6 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Es wurde CSA (10.8 mg, 46  $\mu\text{mol}$ , 0.3 Äq.) hinzugeben und 1 h gerührt, bevor die Reaktion durch Zugabe von  $\text{Et}_3\text{N}$  (22  $\mu\text{L}$ , 159  $\mu\text{mol}$ , 1.05 Äq.) beendet wurde. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 4:1) konnte Alkohol **151** (75 mg, 141  $\mu\text{mol}$ , 92%) als Diastereomerengemisch in Form eines viskosen, farblosen Öls gewonnen werden.

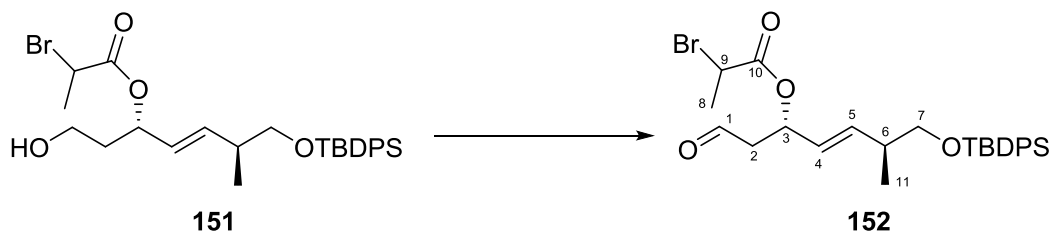
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.64 (m, 4 H, OTBDPS), 7.45-7.35 (m, 6 H, OTBDPS), 5.77 (ddd,  $J = 14.5, 13.2, 7.2$  Hz, 1 H, 5-CH), 5.54-5.42 (m, 2 H, 4-CH, 3-CH), 4.34, 4.31 (q,  $J = 7.0$  Hz, 1 H, 9-CH), 3.71-3.61 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.56-3.47 (m, 2 H, 7-CH<sub>2</sub>), 2.41 (m, 1 H, 6-CH), 1.93-1.85 (m, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 1.80, 1.77 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, 8-CH<sub>3</sub>), 1.05-1.03 (m, 9 H, OTBDPS), 1.00 (m, 3 H, 11-CH<sub>3</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.0 (q, 10-C), 137.7, 137.5 (t, 5-CH), 135.7 (t, OTBDPS), 133.9 (q, OTBDPS), 129.8, 129.7 (t, OTBDPS), 127.8 (t, OTBDPS), 127.2, 126.9 (t, 4-CH), 73.9 (t, 3-CH), 68.4, 68.3 (s, 7-CH<sub>2</sub>), 58.8, 58.8 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 40.7, 40.2 (t, 6-CH), 39.1, 39.1 (t, 9-CH), 37.7, 37.6 (s, 2-CH<sub>2</sub>), 27.0, 27.0 (p, OTBDPS), 21.8, 21.5 (p, 8-CH<sub>3</sub>), 19.4 (q, OTBDPS), 16.4, 16.4 (p, 11-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{O}_4\text{BrSiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 555.1537 gef. 555.1558.

**$R_f$**  (PE/EE 5:1): 0.12 und 0.21.

**(3*S*,6*S*,*E*)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-6-methylhept-4-en-1-on-3-bromopropanoat (**152**)**

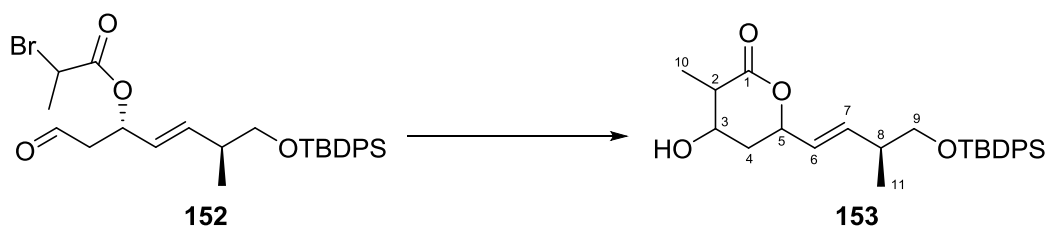


Alkohol **151** (161 mg, 0.30 mmol, 1 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (6.1 mL) bei 0 °C gelöst und DMP (256 mg, 0.60 mmol, 1.5 Äq.) gefolgt von  $\text{NaHCO}_3$  (76.0 mg, 0.91 mmol, 3 Äq.) hinzugegeben. Nach 30 min wurde die Reaktion auf Raumtemperatur erwärmt und für 2 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung beendet. Es wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit ges.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 6:1) wurde Aldehyd **152** (149 mg, 0.28 mmol, 93%) als Öl erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.73 (m, 1 H, 1-CH), 7.64 (m, 4 H, OTBDPS), 7.47-7.33 (m, 6 H, OTBDPS), 5.91-5.68 (m, 2 H, 5-CH, 3-CH), 5.52 (m, 1 H, 4-CH), 4.30 (m, 1 H, 9-CH), 3.52 (m, 2 H, 7- $\text{CH}_2$ ), 2.91-2.60 (m, 2 H, 2- $\text{CH}_2$ ), 2.41 (m, 1 H, 6-CH), 1.77 (m, 3 H, 8- $\text{CH}_3$ ), 1.08-0.97 (m, 12 H, OTBDPS, 11- $\text{CH}_3$ ) ppm.

$R_f$  (PE/EE 6:1): 0.64.

**6-((*S*,*E*)-4-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-3-methylbut-1-en-1-yl)-4-hydroxy-3-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-on (**153**)**



Aldehyd **152** (148 mg, 0.28 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (1 mL, entgast via *freeze, pump, thaw*) gelöst, auf -78 °C abgekühlt und zu einer auf -78 °C gekühlten  $\text{SmI}_2$ -Lösung (18 mL, 1.8 mmol, 6.5 Äq., 0.1 M in THF von ABCR) zügig zugetropft. Die Reaktion wurde 1.5 h bei -78 °C gerührt, bevor vorsichtig auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach 10 min wurde die Reaktion durch vorsichtige Zugabe von 0.1 M HCl (2 mL) beendet. Die anfänglich tiefblaue Lösung wurde für 15 min gerührt bis eine bleibende gelbliche Färbung festzustellen war.

Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 6.4→2.5:1) konnte Lacton **153** (103 mg, 0.23 mmol, 82%) als Diastereomerengemisch gewonnen werden.

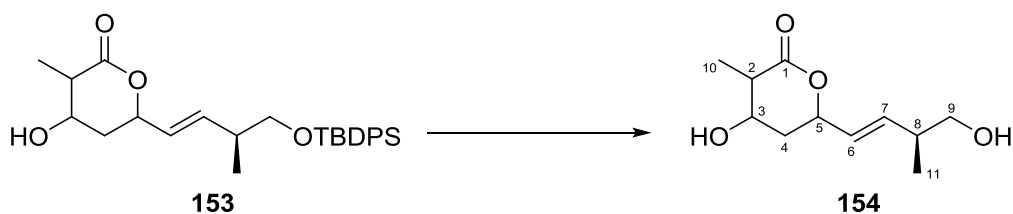
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.65 (m, 4 H, OTBDPS), 7.40 (m, 6 H, OTBDPS), 5.77 (ddd,  $J = 15.6, 7.0, 1.1$  Hz, 1 H, 7-CH), 5.52 (dddd,  $J = 15.6, 11.9, 6.5, 1.3$  Hz, 1 H, 6-CH), 5.14, 5.00 (m, 1 H, 5-CH), 4.18, 3.88 (m, 1 H, 3-CH), 3.54 (m, 2 H, 9-CH<sub>2</sub>), 2.54 (m, 1 H, 2-CH), 2.42 (m, 1 H, 8-CH), 2.13-1.88 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.33 (m, 3 H, 10-CH<sub>3</sub>), 1.05 (m, 9 H, OTBDPS), 1.01 (m, 3 H, 11-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 173.0 (q, 1-C), 137.0 (t, 7-CH), 136.6 (q, OTBDPS), 135.6 (t, OTBDPS), 133.8, 133.7 (q, OTBDPS), 129.6 (t, OTBDPS), 127.7, 127.6 (t, OTBDPS), 126.9 (t, 6-CH), 75.5, 75.5 (t, 5-CH), 69.1, 67.6 (t, 3-CH), 68.1, 68.1 (s, 9-CH<sub>2</sub>), 43.2, 41.2 (t, 2-CH), 38.9, 38.8 (t, 8-CH), 37.3, 36.7 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 26.8 (p, OTBDPS), 19.3 (q, OTBDPS), 16.2 (p, 11-CH<sub>3</sub>), 14.2, 12.6 (p, 10-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup>: ber. 475.2281 gef. 475.2275.

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1): 0.41 und 0.44.

**4-Hydroxy-6-((*S,E*)-4-hydroxy-3-methylbut-1-en-1-yl)-3-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-on (**154**)**



Lacton **153** (30 mg, 66.3 μmol, 1 Äq.) wurde in THF (2.7 mL) gelöst. TBAT (107 mg, 198 μmol, 3 Äq.) wurde bei -78 °C zugegeben und die Reaktion langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 16 h wurde H<sub>2</sub>O (2 mL) zugegeben und die wässrige Phase dreimal mit MTBE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 1:1) konnte Alkohol **154** (10.3 mg, 48.1 μmol, 73%) in ausreichender Reinheit gewonnen werden.

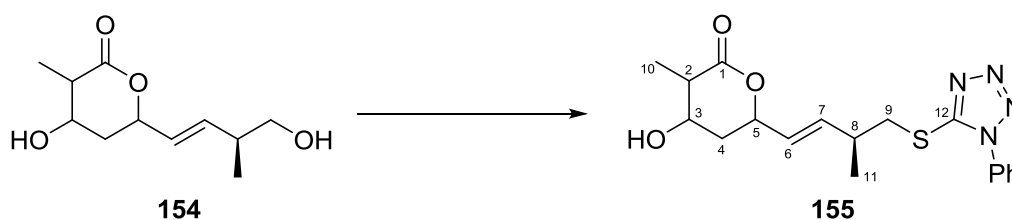
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.72 (m, 1 H, 7-CH), 5.61 (m, 1 H, 6-CH), 5.18, 5.05 (m, 1 H, 5-CH), 4.20, 3.91 (m, 1 H, 3-CH), 3.49 (m, 2 H, 9-CH<sub>2</sub>), 2.59, 2.54 (m, 1 H, 2-CH), 2.40 (m, 1 H, 8-CH), 2.15-1.88 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.34 (m, 3 H, 10-CH<sub>3</sub>), 1.02 (m, 3 H, 11-CH<sub>3</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  173.7, 173.1 (q, 1-C), 136.7, 136.4 (t, 7-CH), 129.2, 128.3 (t, 6-CH), 76.5, 75.4 (t, 5-CH), 69.0, 67.5 (t, 3-CH), 67.0 (s, 9- $\text{CH}_2$ ), 43.1, 41.3 (t, 2-CH), 39.2 (t, 8-CH), 37.2, 36.7 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 16.2 (p, 11- $\text{CH}_3$ ), 14.2, 12.6 (p, 10- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 237.1097 gef. 237.1097.

**$R_f$**  (PE/EE 1:1): 0.04.

**4-Hydroxy-3-methyl-6-((*S,E*)-3-methyl-4-((phenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)thio)but-1-en-1-yl)tetrahydro-2*H*-pyran-2-on (155)**



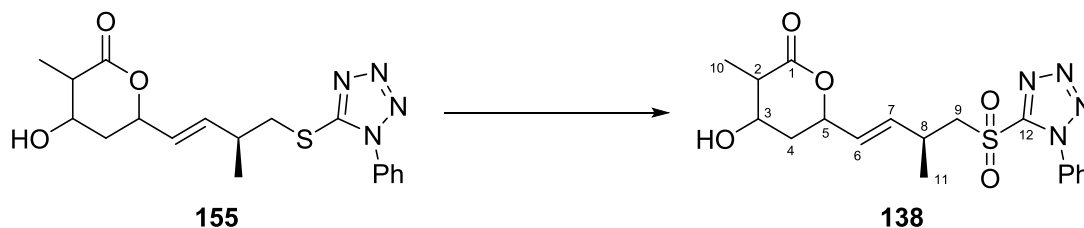
Alkohol **154** (16 mg, 74.7  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) wurde in THF (500  $\mu\text{L}$ ) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Es wurde  $\text{PPh}_3$  (33.1 mg, 126  $\mu\text{mol}$ , 1.3 Äq.) und 1-Phenyl-1*H*-tetrazol-5-thiol (22.5 mg, 126  $\mu\text{mol}$ , 1.3 Äq.) zugegeben, gefolgt von tropfenweiser Zugabe von DIAD (24.7  $\mu\text{L}$ , 126  $\mu\text{mol}$ , 1.3 Äq.). Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 1 h gerührt, bevor die Reaktion durch Zugabe von ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung beendet wurde. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 5:1→2:1) wurde Produkt **155** (19.4 mg, 51.8  $\mu\text{mol}$ , 69%) zusammen mit einer aromatischen Verunreinigung isoliert.

**$^1\text{H}$ -NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.58 (m, 5 H, Ph), 5.72 (m, 1 H, 7-CH), 5.56 (m, 1 H, 6-CH), 5.16, 5.01 (m, 1 H, 5-CH), 4.18, 3.85 (m, 1 H, 3-CH), 3.38 (m, 2 H, 9- $\text{CH}_2$ ), 2.72 (m, 1 H, 8-CH), 2.57, 2.50 (m, 1 H, 2-CH), 2.09, 1.95, 1.79 (m, 2 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.30 (m, 3 H, 10- $\text{CH}_3$ ), 1.16 (m, 3 H, 11- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  173.9, 173.3 (q, 1-C), 154.4, 154.3 (q, 12-C), 136.0, 135.5 (t, 7-CH), 133.5 (q, Ar), 132.1 (t, Ar), 129.8 (t, Ar), 129.1 (t, 6-CH), 128.6 (t, Ar), 123.9 (t, Ar), 76.0, 75.0 (t, 5-CH), 68.7, 67.1 (t, 3-CH), 43.2, 41.3 (t, 2-CH), 39.3, 39.3 (s, 9- $\text{CH}_2$ ), 37.1, 36.7 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 36.2, 36.1 (t, 8-CH), 19.4, 19.4 (p, 11- $\text{CH}_3$ ), 14.2, 12.6 (p, 10- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{SNa}$   $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{Na}]^+$ : ber. 379.1199 gef. 379.1191.

**$R_f$**  (PE/EE 2:1): 0.31.

**4-Hydroxy-3-methyl-6-((*S,E*)-3-methyl-4-((phenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulfonyl)but-1-en-1-yl)tetrahydro-2*H*-pyran-2-on (138)**

Thioether **155** (20.6 mg, 55.0  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) wurde in EtOH (2 mL) gelöst. Bei 0 °C wurde eine Lösung aus Ammoniummolybdat (20.4 mg, 16.5  $\mu\text{mol}$ , 0.3 Äq.) in  $\text{H}_2\text{O}_2$  (100  $\mu\text{L}$ , 0.98 mmol, 18 Äq., 30%-ig) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 18 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  beendet und die wässrige Phase dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung wurde Produkt **138** (8.2 mg, 20.2  $\mu\text{mol}$ , 37%) in ausreichender Reinheit erhalten.

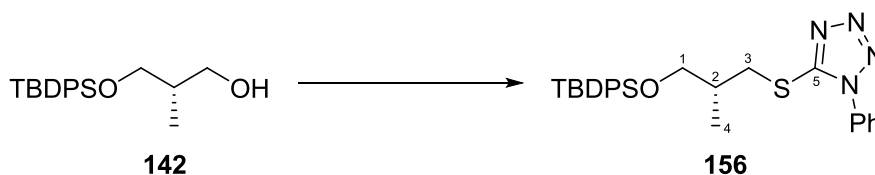
**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.71, 7.62 (m, 5 H, Ph), 5.71 (m, 1 H, 7-CH), 5.58 (m, 1 H, 6-CH), 5.09, 4.93 (m, 1 H, 5-CH), 4.19, 3.89 (m, 1 H, 3-CH), 3.89 (m, 1 H, 9-CH<sub>2</sub>), 3.66 (m, 1 H, 9-CH<sub>2</sub>), 3.07 (m, 1 H, 8-CH), 2.55 (m, 1 H, 2-CH), 2.07, 1.94, 1.79 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.32 (m, 3 H, 10-CH<sub>3</sub>), 1.25 (m, 3 H, 11-CH<sub>3</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172.8 (q, 1-C), 153.8, 153.8 (q, 12-C), 134.4, 133.4 (t, 7-CH), 133.0 (q, Ar), 131.5, 131.5 (t, Ar), 129.7, 129.7 (t, Ar), 129.7, 128.9 (t, 6-CH), 125.2, 125.2 (t, Ar), 75.2, 74.4 (t, 5-CH), 68.8, 67.3 (t, 3-CH), 61.1, 61.1 (s, 9-CH<sub>2</sub>), 43.2, 41.3 (t, 2-CH), 36.9, 36.3 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 31.9, 31.8 (t, 8-CH), 20.2 (p, 11-CH<sub>3</sub>), 14.1, 12.6 (p, 10-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_4\text{SNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 411.1097 gef. 411.1088.

**$R_f$**  (PE/EE 1:1): 0.42.



**(R)-5-((3-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-2-methylpropyl)thio)-1-phenyl-1H-tetrazol (156)**

Alkohol **142** (200 mg, 0.61 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (6 mL) gelöst. Bei 0 °C wurde PPh<sub>3</sub> (192 mg, 0.73 mmol, 1.2 Äq.) und 1-Phenyl-1*H*-tetrazol-5-thiol (130 mg, 0.73 mmol, 1.2 Äq.) zugegeben, gefolgt von tropfenweiser Zugabe von DIAD (144 µL, 0.73 mmol, 1.2 Äq.). Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 1 h gerührt, bevor die Reaktion durch Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung beendet wurde. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Et<sub>2</sub>O extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 8:1) wurde Produkt **156** (281 mg, 0.57 mmol, 93%) gewonnen.

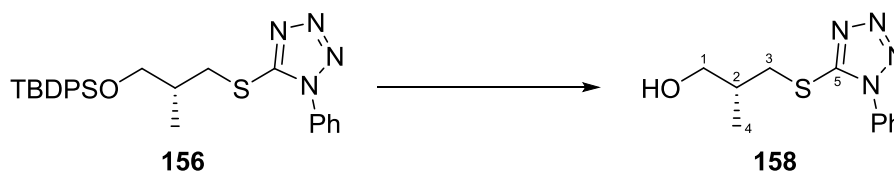
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.64 (m, 4 H, OTBDPS), 7.55 (m, 5 H, Ph), 7.43-7.33 (m, 6 H, OTBDPS), 3.68 (dd, *J* = 10.2, 4.9 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.58 (dd, *J* = 10.1, 5.7 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.55 (dd, *J* = 12.8, 6.8 Hz, 1 H, 3-CH<sub>2</sub>), 3.44 (dd, *J* = 12.9, 6.3 Hz, 1 H, 3-CH<sub>2</sub>), 2.20 (m, 1 H, 2-CH), 1.08 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H, 4-CH<sub>3</sub>), 1.05 (m, 9 H, OTBDPS) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 154.7 (q, 5-C), 135.6 (t, Ar), 133.4 (q, Ar), 133.3 (q, Ar), 130.0 (t, Ar), 129.7 (t, Ar), 129.7 (t, Ar), 127.7 (t, Ar), 123.8 (t, Ar), 66.9 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 36.8 (s, 3-CH<sub>2</sub>), 35.5 (t, 2-CH), 26.8 (p, OTBDPS), 19.3 (q, OTBDPS), 16.3 (p, 4-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>4</sub>OSSi [M+H]<sup>+</sup>: ber. 489.2144 gef. 489.2145.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +56.1 (c = 1.2, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 8:1): 0.54.

**(R)-2-Methyl-3-((1-phenyl-1H-tetrazol-5-yl)thio)propan-1-ol (158)**

Thioether **156** (100 mg, 0.20 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (3 mL) gelöst. TBAF (204 µL, 0.20 mmol, 1 Äq., 1 M in THF) wurde bei 0 °C zugetropft. Es wurde 45 min bei 0 °C gerührt, bevor auf Raumtemperatur erwärmt und für weitere 2 h gerührt wurde. Nach Entfernen des

Lösungsmittels und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 3:1) konnte Produkt **158** (48 mg, 0.19 mmol, 94%) als viskoses Öl gewonnen werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.59 (m, 5 H, Ph), 3.66 (m, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.53 (dd, *J* = 14.1, 4.9 Hz, 1 H, 3-CH<sub>2</sub>), 3.51 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>, OH), 3.47 (dd, *J* = 13.9, 6.2 Hz, 1 H, 3-CH<sub>2</sub>), 2.21 (m, 1 H, 2-CH), 1.06 (d, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 4-CH<sub>3</sub>) ppm.

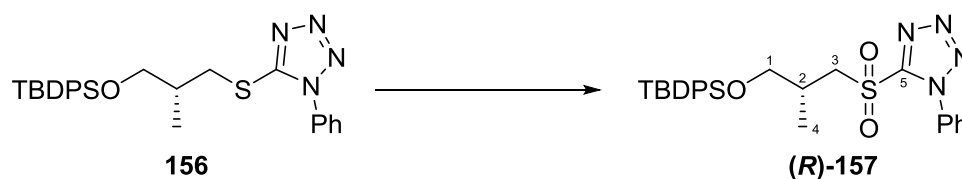
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 133.5 (q, Ph), 130.3 (t, Ph), 129.8 (t, Ph), 123.9 (t, Ph), 64.4 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 36.8 (s, 3-CH<sub>2</sub>), 36.3 (t, 2-CH), 15.9 (p, 4-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>OS [M+H]<sup>+</sup>: ber. 251.0961 gef. 251.0958.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +7.5 (c = 0.6, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1): 0.28.

**(R)-5-((3-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-2-methylpropyl)sulfonyl)-1-phenyl-1H-tetrazol ((R)-157)**



Thioether **156** (170 mg, 0.35 mmol, 1 Äq.) wurde in EtOH (6 mL) gelöst. Bei 0 °C wurde eine Lösung aus Ammoniummolybdat (129 mg, 0.10 mmol, 0.3 Äq.) in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (300 µL, 2.94 mmol, 8 Äq., 30%-ig) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 18 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H<sub>2</sub>O beendet und die wässrige Phase dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde Produkt **(R)-157** (183 mg, 0.35 mol, 99%) in ausreichender Reinheit erhalten.

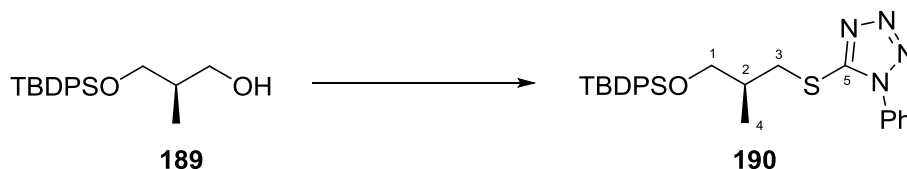
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.73-7.58 (m, 9 H, OTBDPS, Ph), 7.46-7.37 (m, 6 H, OTBDPS), 4.16 (dd, *J* = 14.4, 4.5 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.74 (dd, *J* = 10.4, 4.9 Hz, 1 H, 3-CH<sub>2</sub>), 3.58 (dd, *J* = 14.7, 8.4 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.54 (dd, *J* = 10.3, 6.2 Hz, 1 H, 3-CH<sub>2</sub>), 2.53 (m, 1 H, 2-CH), 1.16 (d, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 4-CH<sub>3</sub>), 1.07 (m, 9 H, OTBDPS) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 154.0 (q, 5-C), 135.6 (t, Ar), 134.8 (q, Ar), 133.0 (q, Ar), 133.0 (q, Ar), 131.4 (t, Ar), 129.8 (t, Ar), 129.7 (t, Ar), 127.8 (t, Ar), 127.7 (t, Ar), 125.1 (t, Ar), 66.9 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 58.7 (s, 3-CH<sub>2</sub>), 31.1 (t, 2-CH), 26.8, 26.5 (p, OTBDPS), 19.3 (q, OTBDPS), 16.8 (p, 4-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $C_{27}H_{32}N_4O_3SSiNa$   $[M+Na]^+$ : ber. 543.1857 gef. 543.1853.

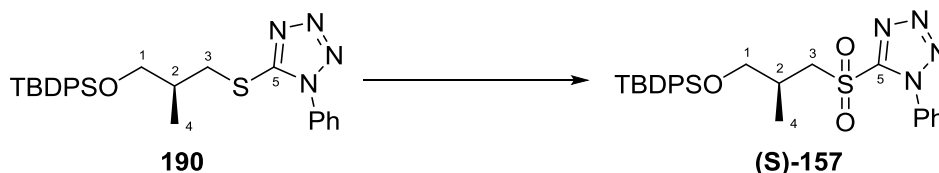
$[\alpha]_D^{20}$ : -3.6 ( $c = 0.7$ ,  $CH_2Cl_2$ ).

**(S)-5-((3-*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-2-methylpropylthio)-phenyl-1*H*-tetrazol (190)**



Alkohol **189** (717 mg, 2.19 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (22 mL) gelöst. Bei 0 °C wurden  $PPh_3$  (688 mg, 2.62 mmol, 1.2 Äq.) und 1-Phenyl-1*H*-tetrazol-5-thiol (467 mg, 2.62 mmol, 1.2 Äq.) zugegeben, gefolgt von tropfenweiser Zugabe von DIAD (515  $\mu$ L, 2.62 mmol, 1.2 Äq.). Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 1 h gerührt, bevor die Reaktion durch Zugabe von ges.  $NH_4Cl$ -Lösung beendet wurde. Die wässrige Phase wurde dreimal mit  $Et_2O$  extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und Filtrieren über Silicagel (PE/EE 8:1) wurde Produkt **190** (1.10 g) in ausreichender Reinheit gewonnen und direkt in die nächste Stufe eingesetzt.

**(S)-5-((3-*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-2-methylpropylsulfonyl)-phenyl-1*H*-tetrazol ((S)-157)**



Das Produkt aus der vorherigen Stufe wurde in EtOH (38 mL) gelöst. Bei 0 °C wurde eine Lösung aus Ammoniummolybdat (810 mg, 0.66 mmol, 0.3 Äq.) in  $H_2O_2$  (2 mL, 20 mmol, 9 Äq., 30%-ig) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 14 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von  $H_2O$  beendet und die wässrige Phase dreimal mit  $CH_2Cl_2$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/EE 11:1) wurde Produkt **(S)-157** (372 mg, 0.71 mmol, 33% über 2 Stufen) und das entsprechende Sulfoxid (617 mg, 1.22 mmol, 56%) erhalten. Das Sulfoxid konnte in einem zweiten Oxidationszyklus unter identischen Bedingungen zum Sulfon **(S)-157** oxidiert werden (617 mg, 1.18 mmol, 97%, kombinierte Ausbeute: 989 mg, 1.90 mmol, 87% über 2 Stufen).

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.74-7.58 (m, 9 H, OTBDPS, Ph), 7.46-7.36 (m, 6 H, OTBDPS), 4.15 (dd,  $J = 11.8, 6.9$  Hz, 1 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.74 (dd,  $J = 9.0, 5.8$  Hz, 1 H, 3- $\text{CH}_2$ ), 3.58 (dd,  $J = 13.4, 9.6$  Hz, 1 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.54 (dd,  $J = 10.4, 6.1$  Hz, 1 H, 3- $\text{CH}_2$ ), 2.53 (m, 1 H, 2-CH), 1.16 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3 H, 4- $\text{CH}_3$ ), 1.07 (m, 9 H, OTBDPS) ppm.

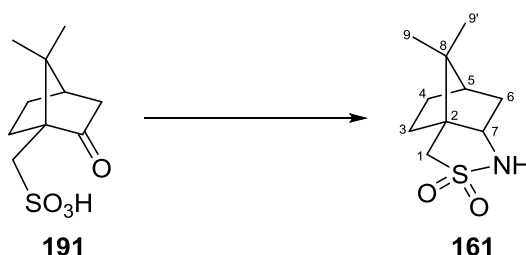
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  154.0 (q, 5-C), 135.6 (t, Ar), 134.8 (q, Ar), 133.0 (q, Ar), 133.0 (q, Ar), 131.4 (t, Ar), 129.8 (t, Ar), 129.7 (t, Ar), 127.8 (t, Ar), 127.7 (t, Ar), 125.1 (t, Ar), 66.9 (s, 1- $\text{CH}_2$ ), 58.7 (s, 3- $\text{CH}_2$ ), 31.1 (t, 2-CH), 26.8, 26.5 (p, OTBDPS), 19.3 (q, OTBDPS), 16.8 (p, 4- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_3\text{SSiK}$   $[\text{M}+\text{K}]^+$ : ber. 559.1596 gef. 559.1592.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +4.3 ( $c = 1.6$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 10:1): 0.24 und 0.05 (Sulfoxid).

### (6*R*)-Camphersultam (**161**)



Zu (+)-Camphersulfonsäure **191** (75.0 g, 320 mmol, 1 Äq.) wurde Thionylchlorid (46.8 mL, 650 mmol, 2 Äq.) tropfenweise zugegeben. Es wurde auf 115 °C erhitzt bis keine Gasentwicklung mehr festzustellen war, bevor 2 Tropfen DMF zugegeben wurden. Überschüssiges Thionylchlorid wurde unter vermindertem Druck entfernt und anschließend mit Toluol (35 mL) codestilliert.

Das erhaltene Rohprodukt wurde in 1,4-Dioxan (140 mL) gelöst und in auf -12 °C abgekühlte konzentrierte Ammoniak-Lösung (1.2 L) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt und dann auf 90 °C für 4 h erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Produkt abfiltriert und mit  $\text{H}_2\text{O}$  (2 x 35 mL) gewaschen.

Das Rohprodukt der vorherigen Stufe wurde in  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  (472 mL, 3:1) gelöst und auf 5 °C abgekühlt.  $\text{NaBH}_4$  (11.6 g, 440 mmol, 1 Äq.) wurde langsam, portionsweise zugegeben. Nach Abschluss der Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80 mL) aufgenommen, und in 2 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (432 mL) gegeben. Es wurde zweimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des

Lösungsmittels unter vermindertem Druck konnte das Produkt **161** (57.3 g, 270 mol, 84% über 3 Stufen) als farbloser Feststoff gewonnen werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.97 (bs, 1 H, NH), 3.43 (m, 1 H, 7-CH), 3.12 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>), 2.01-1.84 (m, 5 H, 3-CH<sub>2</sub>, 5-CH, 6-CH<sub>2</sub>), 1.49-1.42 (m, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.36-1.24 (m, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.13 (s, 3 H, 9'-CH<sub>3</sub>), 0.94 (s, 3 H, 9-CH<sub>3</sub>) ppm.

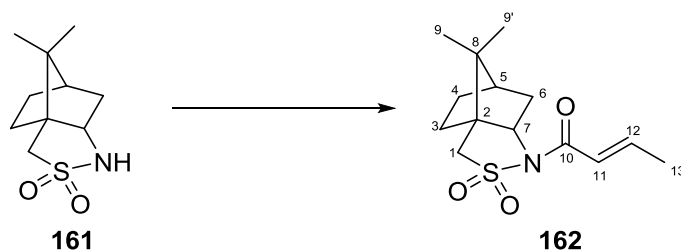
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 63.0 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 55.2 (t, 7-CH<sub>2</sub>), 50.5 (q, 2-C), 47.6 (q, 8-C), 44.8 (t, 5-CH), 36.2 (s, 3-CH<sub>2</sub>), 32.0 (s, 6-CH<sub>2</sub>), 26.9 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 20.6 (p, 9-CH<sub>3</sub>), 20.6 (p, 9'-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: ber. 216.1053 gef. 216.1050.

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>**: -26.9 (c = 1.1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 8:1): 0.27.

**(E)-1-((3a*R*,6*R*)-8,8-Dimethyl-2,2-dioxidotetrahydro-3*H*-3a,6-methanobenzo[*c*]isothiazol-1(4*H*)-yl)but-2-en-1-on (162)**



Sultam **161** (25.0 g, 116 mmol, 1 Äq.) wurde in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 mL) gelöst und Crotonsäure (30.0 g, 348 mmol, 3 Äq.), gefolgt von DMAP (7.10 g, 58.0 mmol, 0.5 Äq.) zugegeben. Bei 0 °C wurde DCC (26.4 g, 128 mmol, 1.1 Äq.) langsam zugegeben. Die Reaktion wurde 3 h bei 0 °C und anschließend 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde ein gelbliches Rohprodukt erhalten. Durch zweimaliges Umkristallisieren aus MeOH wurde Produkt **162** (16.0 g, 56.0 mmol, 48%) in ausreichender Reinheit erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.10 (dq, *J* = 15.0, 7.0 Hz, 1 H, 12-CH), 6.59 (dq, *J* = 15.0, 1.7 Hz, 1 H, 11-CH), 3.93 (dd, *J* = 7.6, 5.0 Hz, 1 H, 7-CH), 3.48 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>), 2.17-2.06 (m, 2 H, 6-CH<sub>2</sub>), 1.96-1.85 (m, 3 H, 3-CH<sub>2</sub>, 4-CH<sub>2</sub>, 5-CH), 1.93 (dd, *J* = 7.0, 1.7 Hz, 3 H, 13-CH<sub>3</sub>), 1.45-1.32 (m, 2 H, 3-CH<sub>2</sub>, 4-CH<sub>2</sub>), 1.17 (s, 3 H, 9-CH<sub>3</sub>), 0.97 (s, 3 H, 9'-CH<sub>3</sub>) ppm.

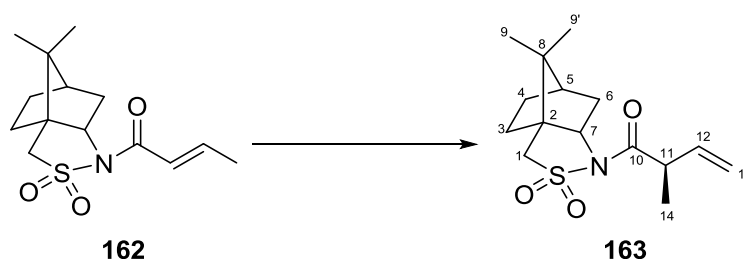
**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  164.1 (q, 10-C), 146.3 (t, 12-CH), 122.4 (t, 11-CH), 65.3 (t, 7-CH), 53.3 (s, 1- $\text{CH}_2$ ), 48.6 (q, 2-C), 47.9 (q, 8-C), 44.8 (t, 5-CH), 38.6 (s, 6- $\text{CH}_2$ ), 33.0 (s, 3- $\text{CH}_2$ ), 26.6 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 21.0 (p, 9- $\text{CH}_3$ ), 20.0 (p, 9'- $\text{CH}_3$ ), 18.5 (p, 13- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{SNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 306.1134 gef. 306.1132.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : -83.8 ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (Hex/EE 7:3): 0.74.

**(2R)-1-((3aR,6R)-8,8-Dimethyl-2,2-dioxidotetrahydro-3H-3a,6-methanobenzo[c]isothiazol-1(4H)-yl)-2-methylbut-3-en-1-on (163)**



*N*-Crotylbornan-10,2-sultam **162** (16.0 g, 56.5 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (450 mL) gelöst und langsam über 2 h zu einer auf  $-78^\circ\text{C}$  abgekühlten Lösung aus LiHMDS (130 mL, 130 mmol, 2.3 Äq., 1 M in THF) und HMPA (68.5 mL, 390 mmol, 6.9 Äq.) zugetropft. Nach 45 min bei  $-78^\circ\text{C}$  wurde eine Lösung aus MeI (24.3 mL, 390 mmol, 6.9 Äq.) in THF (120 mL) über 40 min zugetropft. Nach 45 min wurde die Reaktion durch Zugabe von ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung (400 mL) beendet und auf Raumtemperatur erwärmt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal jeweils mit  $\text{H}_2\text{O}$  und ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen. Es wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Umkristallisation aus MeOH wurde das Produkt **163** (14.6 g, 49.1 mmol, 87%) in Form farbloser Nadeln gewonnen.

**$^1\text{H}$ -NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.97 (ddd,  $J = 17.4, 10.2, 7.3$  Hz, 1 H, 12-CH), 5.20 (ddd,  $J = 17.2, 1.2, 1.2$  Hz, 1 H, 13- $\text{CH}_2$ ), 5.14 (ddd,  $J = 10.3, 1.1, 1.1$  Hz, 1 H, 13- $\text{CH}_2$ ), 3.88 (t,  $J = 6.4$  Hz, 1 H, 7-CH), 3.79 (m, 1 H, 11-CH), 3.48 (m, 2 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 2.06 (m, 2 H, 6- $\text{CH}_2$ ), 1.95-1.84 (m, 3 H, 3- $\text{CH}_2$ , 4- $\text{CH}_2$ , 5-CH), 1.43-1.35 (m, 2 H, 3- $\text{CH}_2$ , 4- $\text{CH}_2$ ), 1.34 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, 14- $\text{CH}_3$ ), 1.16 (s, 3 H, 9'- $\text{CH}_3$ ), 0.97 (s, 3 H, 9- $\text{CH}_3$ ) ppm.

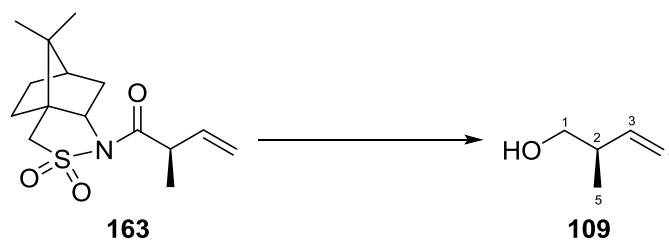
**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.4 (q, 10-C), 136.4 (t, 12-CH), 116.7 (s, 13- $\text{CH}_2$ ), 65.3 (t, 7-CH), 53.3 (s, 1- $\text{CH}_2$ ), 48.5 (q, 2-C), 47.9 (q, 8-C), 44.7 (t, 5-CH), 44.1 (t, 11-CH), 38.5 (s,

6-CH<sub>2</sub>), 33.0 (s, 3-CH<sub>2</sub>), 26.6 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 21.0 (p, 9'-CH<sub>3</sub>), 20.0 (p, 9-CH<sub>3</sub>), 19.0 (p, 14-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: ber. 298.1471 gef. 298.1467.

$[\alpha]_D^{20}$ : -75.9 (c = 1.0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**(R)-2-Methylbut-3-en-1-ol (109)**



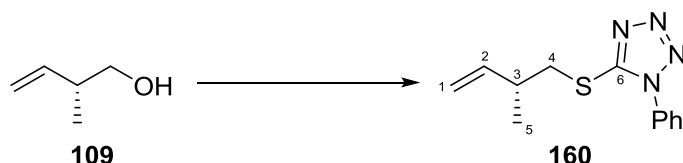
LAH (4.24 g, 106 mmol, 2.1 Äq.) wurde in Et<sub>2</sub>O (69 mL) vorgelegt und eine Lösung von Sultam **163** (15.2 g, 51.1 mmol, 1 Äq.) in Et<sub>2</sub>O (450 mL) tropfenweise bei 0 °C über 4.5 h zugegeben. Nach vollständiger Zugabe wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 1 h gerührt. Die Reaktion wurde durch sequentielle, tropfenweise Zugabe von H<sub>2</sub>O (4.3 mL), 15%ige NaOH (4.3 mL) und H<sub>2</sub>O (13 mL) beendet. Es wurde über Natriumsulfat für 12 h getrocknet und durch eine Glasfritte filtriert. Der Filterkuchen wurde in Et<sub>2</sub>O (170 mL) aufgeschlämmt, erneut filtriert und die organischen Phasen vereinigt. Diese Prozedur wurde viermal wiederholt. Et<sub>2</sub>O wurde mittels atmosphärischer Destillation über eine VIGREUX-Kolonnen entfernt. Durch Vakuumdestillation des Rückstands wurde Alkohol **109** (3.20 g, 37.2 mmol, 73%) als farbloses Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.71 (ddd,  $J$  = 17.5, 10.2, 7.3 Hz, 1 H, 3-CH), 5.13 (m, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 5.10 (m, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 3.52 (dd,  $J$  = 10.6, 5.5 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.43 (dd,  $J$  = 10.5, 7.6 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 2.37 (dtq,  $J$  = 6.9, 6.9, 6.8 Hz, 1 H, 2-CH), 1.02 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 3 H, 5-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 141.0 (t, 3-CH), 116.0 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 67.1 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 40.8 (t, 2-CH), 16.1 (p, 5-CH<sub>3</sub>) ppm.

$[\alpha]_D^{20}$ : +33.1 (c = 1.0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**Sdp.:** 58 °C (95 mbar).

**(R)-5-((2-Methylbut-3-en-1-yl)thio)-1-phenyl-1-*H*-tetrazol (160)**

Alkohol **109** (1 mL, 9.70 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (96 mL) bei 0 °C gelöst, PPh<sub>3</sub> (3.05 g, 11.6 mmol, 1.2 Äq.), 1-Phenyl-1*H*-tetrazol-5-thiol (2.07 g, 11.6 mmol, 1.2 Äq.) zugegeben und DIAD (2.28 mL, 11.6 mmol, 1.2 Äq.) zugetropft. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und nach 1.5 h die Reaktion durch Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Et<sub>2</sub>O extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Filtrieren über Silicagel (PE/EE 10:1) wurde ein farbloses Rohprodukt (2.79 g) in ausreichender Reinheit erhalten und direkt in die nächste Stufe eingesetzt.

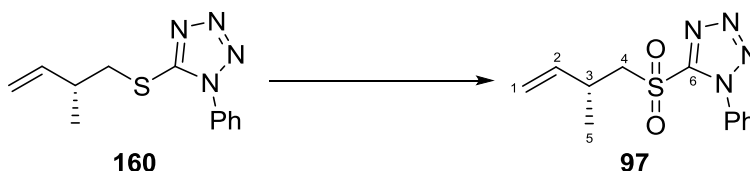
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.60-7.52 (m, 5 H, Ph), 5.76 (ddd, *J* = 17.4, 10.3, 7.2 Hz, 1 H, 2-CH), 5.09 (ddd, *J* = 17.2, 1.3, 1.2 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 5.05 (ddd, *J* = 10.3, 1.2, 1.2 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.42 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.68 (dtq, *J* = 7.0, 6.9, 6.8, Hz, 1 H, 3-CH), 1.18 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H, 5-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 154.7 (q, 6-C), 141.0 (t, 2-C), 133.9 (q, Ph), 130.2 (t, Ph), 129.9 (t, Ph), 124.0 (t, Ph), 115.5 (s, 1-C), 39.6 (s, 4-C), 37.5 (t, 3-C), 19.5 (p, 5-C) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: ber. 247.1012 gef. 247.1007.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +16.0 (c = 0.5, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

R<sub>f</sub> (PE/EE 8:1): 0.50.

**(R)-5-((2-Methylbut-3-en-1-yl)sulfonyl)-1-phenyl-1-*H*-tetrazol ((R)-97)**

Das Rohprodukt aus der vorherigen Stufe wurde in EtOH (62 mL) gelöst und bei 0 °C wurde eine Lösung aus Ammoniummolybdat (3.59 g, 2.91 mmol, 0.3 Äq.) in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6 mL, 58.7 mmol, 6 Äq., 30%-ig) tropfenweise zugegeben. Nach 20 h bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von H<sub>2</sub>O vorzeitig zur Unterbindung von Epoxidierung beendet. Es wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden über



Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 6:1) konnte Sulfon (**R**)-**97** (1.60 g, 5.75 mmol, 60% über 2 Stufen) isoliert werden. Entstandenes Sulfoxid wurde in einem zweiten Oxidationszyklus unter identischen Bedingungen zu Sulfon (**R**)-**97** (kombinierte Ausbeute: 2.37 g, 8.52 mmol, 88% über 2 Stufen) umgesetzt. Das zunächst farblose, hochviskose Öl kristallisierte nach mehrtägiger Lagerung bei -20 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.67-7.58 (m, 5 H, Ph), 5.74 (ddd, *J* = 17.3, 10.1, 7.4 Hz, 1 H, 2-CH), 5.10 (ddd, *J* = 17.0, 1.2, 1.2 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 5.03 (ddd, *J* = 10.2, 1.1, 1.0 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.91 (dd, *J* = 14.7, 7.2 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 3.69 (dd, *J* = 14.5, 6.4 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 3.03 (dtq, *J* = 6.9, 7.0, 7.0 Hz, 1 H, 3-CH), 1.25 (d, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 5-CH<sub>3</sub>) ppm.

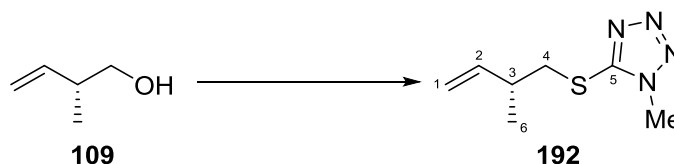
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 154.0 (q, 6-C), 139.6 (t, 2-CH), 133.2 (q, Ph), 131.6 (t, Ph), 129.8 (t, Ph), 125.3 (t, Ph), 115.9 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 61.4 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 32.9 (t, 3-CH), 20.1 (p, 5-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: ber. 279.0910 gef. 279.0906.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +21.6 (c = 0.4, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 6:1): 0.53.

**(R)-1-Methyl-5-((2-methylbut-3-en-1-yl)thio)-1H-tetrazol (192)**



Alkohol **109** (300 µL, 2.91 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (41 mL) bei 0 °C gelöst, PPh<sub>3</sub> (1.31 g, 5.00 mmol, 1.7 Äq.), 1-Methyl-1H-tetrazol-5-thiol (580 mg, 5.00 mmol, 1.7 Äq.) zugegeben und DIAD (982 µL, 5.00 mmol, 1.7 Äq.) zugetropft. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und nach 1.5 h die Reaktion durch Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Et<sub>2</sub>O extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 10:1) wurde Produkt **192** (515 mg, 2.79 mmol, 96%) erhalten und direkt in die nächste Stufe eingesetzt.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.74 (ddd, *J* = 17.3, 10.1, 7.2 Hz, 1 H, 2-CH), 5.07 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.90 (s, 3 H, Me), 3.36 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.64 (m, 1 H, 3-CH), 1.17 (d, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 6-CH<sub>3</sub>) ppm.

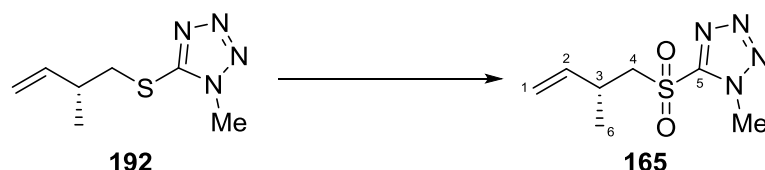
**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  154.5 (q, 5-C), 140.8 (t, 2-C), 115.3 (s, 1-C), 39.4 (s, 4-C), 37.5 (t, 3-C), 33.3 (p, Me), 19.5 (p, 6-C) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{N}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber. 185.0855 gef. 185.0852.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +22.5 ( $c = 1.2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 10:1): 0.08.

**(R)-1-Methyl-5-((2-methylbut-3-en-1-yl)sulfonyl)-1H-tetrazol (165)**



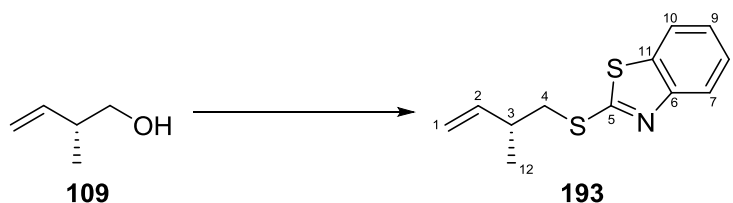
Thioether **192** (493 mg, 2.68 mmol, 1 Äq.) wurde in EtOH (17 mL) gelöst und bei 0 °C wurde eine Lösung aus Ammoniummolybdat (993 mg, 0.80 mmol, 0.3 Äq.) in  $\text{H}_2\text{O}_2$  (1.64 mL, 16.1 mmol, 6 Äq., 30%-ig) tropfenweise zugegeben. Nach 20 h bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  beendet. Es wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 4:1) konnte Sulfon **165** (518 mg, 2.40 mmol, 90%) isoliert werden.

**$^1\text{H}$ -NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.63 (ddd,  $J = 17.1, 10.3, 7.8$  Hz, 1 H, 2-CH), 5.10 (m, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 5.00 (m, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 4.33 (s, 3 H, Me), 3.84 (dd,  $J = 14.7, 7.7$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 3.61 (dd,  $J = 14.9, 6.0$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 3.0 (m, 1 H, 3-CH), 1.25 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, 6-CH<sub>3</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  153.6 (q, 5-C), 139.3 (t, 2-C), 115.8 (s, 1-C), 61.3 (s, 4-C), 36.1 (t, 3-C), 33.1 (p, Me), 20.1 (p, 6-C) ppm.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +20.9 ( $c = 1.1$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 4:1): 0.29.

**(R)-2-((2-Methylbut-3-en-1-yl)thio)benzothiazol (193)**

Alkohol **109** (120  $\mu$ L, 1.16 mmol, 1 Äq.) wurde in THF (10 mL) bei 0 °C gelöst,  $\text{PPh}_3$  (305 mg, 1.16 mmol, 1 Äq.), 2-Mercaptobenzothiazol (195 mg, 1.16 mmol, 1 Äq.) zugegeben und DIAD (228  $\mu$ L, 1.16 mmol, 1 Äq.) zugetropft. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und nach 3 h die Reaktion durch Zugabe von ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit  $\text{Et}_2\text{O}$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 8:1) wurde Produkt **193** (242 mg, 1.03 mmol, 89%) erhalten.

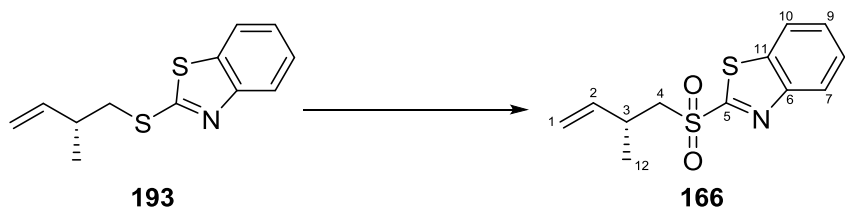
**$^1\text{H}$ -NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.87 (m, 1 H, Ar), 7.75 (m, 1 H, Ar), 7.41 (m, 1 H, Ar), 7.29 (m, 1 H, Ar), 5.82 (ddd,  $J = 17.3, 10.3, 7.1$  Hz, 1 H, 2-CH), 5.09 (m, 2 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.37 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.67 (m, 1 H, 3-CH), 1.20 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, 12-CH<sub>3</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  167.3 (q, 5-C), 153.2 (q, Ar), 141.4 (t, 2-C), 135.1 (q, Ar), 126.0 (t, Ar), 124.1 (t, Ar), 121.4 (t, Ar), 120.9 (t, Ar), 114.9 (s, 1-C), 39.7 (s, 4-C), 37.5 (t, 3-C), 19.3 (p, 12-C) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{NS}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber. 236.0562 gef. 236.0557.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +13.4 ( $c = 1.1$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 8:1): 0.92.

**(R)-2-((2-Methylbut-3-en-1-yl)sulfonyl)benzothiazol (166)**

Thioether **193** (220 mg, 0.94 mmol, 1 Äq.) wurde in EtOH (6 mL) gelöst und bei 0 °C wurde eine Lösung aus Ammoniummolybdat (236 mg, 0.19 mmol, 0.3 Äq.) in  $\text{H}_2\text{O}_2$  (573  $\mu$ L, 5.61 mmol, 6 Äq., 30%-ig) tropfenweise zugegeben. Nach 22 h bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  beendet. Es wurde dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert und die

vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 3.7:1) konnte Sulfon **166** (241 mg, 0.90 mmol, 96%) isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.15 (m, 1 H, Ar), 7.95 (m, 1 H, Ar), 7.55 (m, 2 H, Ar), 5.66 (ddd,  $J = 17.2, 10.1, 7.1$  Hz, 1 H, 2-CH), 5.00 (m, 1 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 4.89 (m, 1 H, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.60 (dd,  $J = 14.3, 6.6$  Hz, 1 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 3.40 (dd,  $J = 14.4, 6.9$  Hz, 1 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 2.94 (m, 1 H, 3-CH), 1.18 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, 12- $\text{CH}_3$ ) ppm.

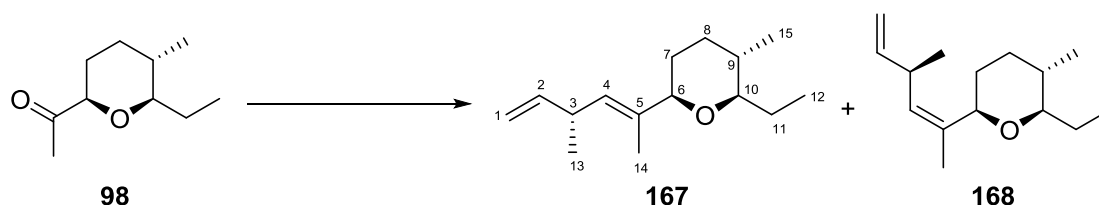
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  166.6 (q, 5-C), 152.7 (q, Ar), 139.8 (t, 2-C), 136.8 (q, Ar), 128.0 (t, Ar), 127.6 (t, Ar), 125.4 (t, Ar), 122.3 (t, Ar), 115.2 (s, 1-C), 60.1 (s, 4-C), 32.7 (t, 3-C), 20.0 (p, 12-C) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{S}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber. 268.0460 gef. 268.0467.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : -3.0 ( $c = 1.2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 3.7:1): 0.68.

**(2*R*,3*S*)-2-Ethyl-3-methyl-6-((*R,E*)-4-methylhexa-2,5-dien-2-yl)tetrahydro-2*H*-pyran (167) & (2*R*,3*S*)-2-Ethyl-3-methyl-6-((*R,Z*)-4-methylhexa-2,5-dien-2-yl)tetrahydro-2*H*-pyran (168)**



Sulfon (***R***)-**97** (34 mg, 124  $\mu\text{mol}$ , 1.2 Äq.) wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (800  $\mu\text{L}$ ) gelöst und LiHMDS (134  $\mu\text{L}$ , 134  $\mu\text{mol}$ , 1.3 Äq., 1 M in THF) bei  $-40^\circ\text{C}$  zugetropft. Nach 10 min wurde  $\text{CeCl}_3$  (11.1 mg, 45  $\mu\text{mol}$ , 0.4 Äq.) zugegeben, gefolgt von tropfenweiser Zugabe einer Lösung aus Keton **98** (17.5 mg, 103  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äq.) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (510  $\mu\text{L}$ ). Die Reaktionslösung wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für 4 h gerührt. Es wurde auf  $-14^\circ\text{C}$  abgekühlt und erneut LiHMDS zugegeben (30  $\mu\text{L}$ , 30  $\mu\text{mol}$ , 0.3 Äq.). Nach weiteren 1.75 h bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung beendet, die wässrige Phase dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck (200 mbar) entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 40:1) wurde das Produkt als Gemisch von *E/Z*-Isomeren **167/168** (16.6 mg, 75  $\mu\text{mol}$ , 73%, *E:Z* 2.3:1) erhalten. Die Trennung der Isomere erfolgte durch säulenchromatographische Auftrennung (Pentan).

(*E*)-Isomer:

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.76 (ddd, *J* = 17.2, 10.3, 6.2 Hz, 1 H, 2-CH), 5.24 (ddq, *J* = 9.0, 1.3, 1.2 Hz, 1 H, 4-CH), 4.95 (ddd, *J* = 17.3, 1.7, 1.7 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 4.89 (ddd, *J* = 10.2, 1.7, 1.6 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.61 (bd, *J* = 10.9 Hz, 1 H, 6-CH), 3.08 (m, 1 H, 3-CH), 2.90 (ddd, *J* = 9.7, 7.2, 2.7 Hz, 1 H, 10-CH), 1.79 (dddd, *J* = 12.8, 3.5, 3.5, 3.4 Hz, 1 H, 8-CH<sub>2</sub>), 1.70 (m, 1 H, 11-CH<sub>2</sub>), 1.65 (d, *J* = 1.4 Hz, 3 H, 14-CH<sub>3</sub>), 1.62 (m, 1 H, 7-CH<sub>2</sub>), 1.48-1.38 (m, 2 H, 7-CH<sub>2</sub>, 11-CH<sub>2</sub>), 1.38-1.30 (m, 1 H, 9-CH), 1.24-1.15 (m, 1 H, 8-CH<sub>2</sub>), 1.06 (d, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 13-CH<sub>3</sub>), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3 H, 12-CH<sub>3</sub>), 0.81 (d, *J* = 6.6 Hz, 3 H, 15-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 143.1 (t, 2-CH), 136.3 (q, 5-C), 128.2 (4-CH), 112.1 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 84.4 (t, 10-CH), 82.1 (t, 6-CH), 36.0 (t, 3-CH), 34.3 (t, 9-CH), 33.4 (s, 8-CH<sub>2</sub>), 31.0 (s, 7-CH<sub>2</sub>), 26.0 (s, 11-CH<sub>2</sub>), 20.6 (p, 13-CH<sub>3</sub>), 17.9 (p, 15-CH<sub>3</sub>), 13.1 (p, 14-CH<sub>3</sub>), 9.6 (p, 12-CH<sub>3</sub>) ppm.

**Anal.** ber. für C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O: C, 81.02; H, 11.79; N, 0. gef.: C, 77.56; H, 11.37; N, 0.12.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +3.1 (c = 0.5, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE): 0.09.

(*Z*)-Isomer:

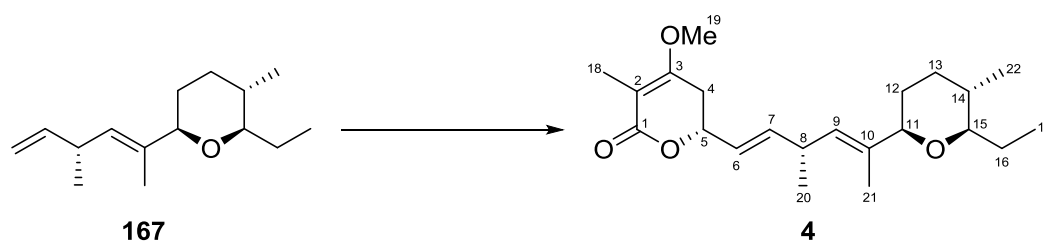
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.79 (ddd, *J* = 17.2, 10.3, 5.9 Hz, 1 H, 2-CH), 5.00 (ddd, *J* = 17.2, 1.7, 1.7 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 5.00 (m, 1 H, 4-CH), 4.91 (ddd, *J* = 10.4, 1.6, 1.6 Hz, 1 H, 1-CH<sub>2</sub>), 4.10 (dd, *J* = 11.4, 2.2 Hz, 1 H, 6-CH), 3.19 (m, 1 H, 3-CH), 2.90 (ddd, *J* = 9.6, 6.9, 2.9 Hz, 1 H, 10-CH), 1.79 (dddd, *J* = 12.9, 3.6, 3.6, 3.1 Hz, 1 H, 8-CH<sub>2</sub>), 1.71 (d, *J* = 1.5 Hz, 3 H, 14-CH<sub>3</sub>), 1.70-1.62 (m, 1 H, 11-CH<sub>2</sub>), 1.62-1.56 (m, 1 H, 7-CH<sub>2</sub>), 1.45-1.38 (m, 2 H, 7-CH<sub>2</sub>, 11-CH<sub>2</sub>), 1.38-1.31 (m, 1 H, 9-CH), 1.28-1.18 (m, 1 H, 8-CH<sub>2</sub>), 1.02 (d, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 13-CH<sub>3</sub>), 0.91 (t, *J* = 7.4 Hz, 3 H, 12-CH<sub>3</sub>), 0.81 (d, *J* = 6.6 Hz, 3 H, 15-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 143.3 (t, 2-CH), 136.3 (q, 5-C), 130.1 (4-CH), 112.3 (s, 1-CH<sub>2</sub>), 84.1 (t, 10-CH), 76.8 (t, 6-CH), 35.6 (t, 3-CH), 33.8 (t, 9-CH), 33.3 (s, 8-CH<sub>2</sub>), 30.8 (s, 7-CH<sub>2</sub>), 25.9 (s, 11-CH<sub>2</sub>), 20.9 (p, 13-CH<sub>3</sub>), 19.4 (p, 14-CH<sub>3</sub>), 18.0 (p, 15-CH<sub>3</sub>), 9.3 (12-CH<sub>3</sub>) ppm.

**Anal.** ber. für C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O: C, 81.02; H, 11.79; N, 0. gef.: C, 79.02; H, 11.69; N, 0.27.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +4.7 (c = 0.5, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**R<sub>f</sub>** (PE): 0.11.

**Jerangolid E (4)**

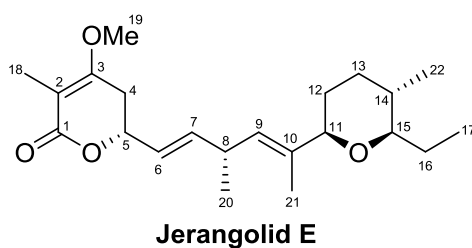
Zu Alken **167** (13 mg, 58.5  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) wurde eine Lösung von Lacton (**R**)-**96d** (36 mg, 198  $\mu\text{mol}$ , 3.38 Äq.) in  $\text{C}_7\text{F}_8$  (156  $\mu\text{L}$ ) zugegeben. Das Lösungsmittel wurde durch Einleitung von Ar für 5 min entgast. Es wurde GRELA-Katalysator **174** (2.4 mg, 3.6  $\mu\text{mol}$ , 0.06 Äq.) zugegeben, der Reaktionskolben mit einem Glasstopfen verschlossen und auf 88 °C erhitzt. Nach 2 h wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, GRELA-Katalysator **174** (2.4 mg, 3.6  $\mu\text{mol}$ , 0.06 Äq.) zugegeben und für weitere 2 h bei 88 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und durch säulenchromatographische Reinigung (PE/EE 5:1) der Mischung konnte Jerangolid E (**4**) (20.7 mg, 57.1  $\mu\text{mol}$ , 98%) gewonnen werden. Analytisch reines Jerangolid E (**4**) wurde durch semipräparative RP-HPLC Reinigung in mehreren Läufen erhalten (durchschnittliche Rückgewinnungsrate: 95%; isolierte Ausbeute: 93%).

**RP-HPLC-Reinigung:** Säule: Kinetex C18 5  $\mu\text{m}$ , 100 Å; Gradient ( $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ ): 95/5-25/75-5/95, 5-20-26 min; Flußrate: 20 mL/min.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 385.2349 gef. 385.2342,  $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber. 363.2535 gef. 363.2526.

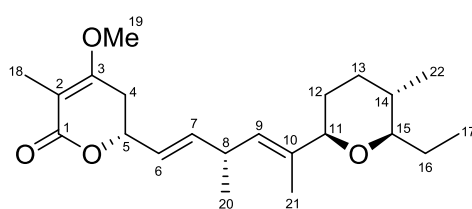
$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +3.7 ( $c = 0.6$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 5:1): 0.47.

**Table 24:** Vergleich  $^1\text{H}$ -NMR Spektren.

<b>H</b>	<b>Isolierter Naturstoff</b>	<b>Synthetisches Produkt</b>
	$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta_{\text{H}}$ ( <i>J</i> in Hz)	$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta_{\text{H}}$ ( <i>J</i> in Hz)
4- $\text{H}_{\text{a}}$	2.88 (ddq, 4.1, 17.3, 0.8)	2.84 (ddq, 17.6, 4.3, 1.1)
4- $\text{H}_{\text{b}}$	2.67 (ddq, 11.3, 17.3, 2.0)	2.63 (ddq, 17.4, 11.5, 2.0)
5-H	4.83 (dd, 4.4., 6.7, br.)	4.80 (ddd, 11.2, 6.6, 4.2 )
6-H	5.63 (ddd, 1.4, 6.6, 15.6)	5.59 (ddd, 15.5, 6.6, 1.4)
7-H	5.87 (ddd, 0.8, 6.2, 15.6)	5.83 (ddd, 15.6, 6.4, 1.0)
8-H	3.21 (m)	3.17 (m)
9-H	5.29 (ddq, 1.2, 1.3, 9.1)	5.25 (ddq, 9.1, 1.1, 1.2)
11-H	3.67 (d, 10.8, br.)	3.63 (bd, 10.8)
12- $\text{H}_{\text{a}}$	1.68 (m)	1.64 (m)
12- $\text{H}_{\text{b}}$	1.48 (m)	1.44 (m)
13- $\text{H}_{\text{a}}$	1.86 (m)	1.82 (dddd, 12.5, 3.4, 3.5, 3.1)
13- $\text{H}_{\text{b}}$	1.30 (m)	1.26 (m)
14-H	1.35 (m)	1.31 (m)
15-H	2.96 (ddd, 2.8, 7.8, 9.2)	2.92 (ddd, 9.1, 8.0, 2.7)
16- $\text{H}_{\text{a}}$	1.75 (m)	1.71 (m)
16- $\text{H}_{\text{b}}$	1.44 (m)	1.40 (m)
17- $\text{H}_3$	0.99 (dd, 7.3, 7.5)	0.95 (dd, 7.4, 7.4)
18- $\text{H}_3$	1.74 (dd, 1.0, 1.7)	1.70 (dd, 1.2, 1.7)

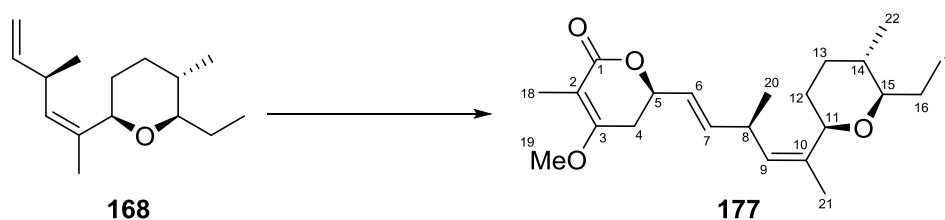
19-H <sub>3</sub>	3.88 (s)	3.84 (s)
20-H <sub>3</sub>	1.13 (d, 6.9)	1.09 (d, 6.9)
21-H <sub>3</sub>	1.69 (d, 1.3)	1.65 (d, 1.4)
22-H <sub>3</sub>	0.87 (d, 6.4)	0.83 (d, 6.4)

**Table 25:** Vergleich <sup>13</sup>C-NMR Spektren.**Jerangolid E**

C	Naturstoff	Synthetisches Produkt
	<sup>13</sup> C-NMR (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ <sub>C</sub>	<sup>1</sup> H-NMR (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ <sub>C</sub>
1	171.4	171.4
2	102.7	102.6
3	169.3	169.4
4	30.3	30.3
5	76.9	77.0
6	126.4	126.4
7	140.3	140.3
8	35.8	35.8
9	128.9	128.9
10	137.8	137.8
11	83.5	83.5
12	32.0	32.0
13	34.3	34.2



14	35.6	35.6
15	85.9	85.9
16	26.9	26.9
17	9.9	9.9
18	8.8	8.8
19	56.3	56.3
20	21.0	21.0
21	13.4	13.4
22	18.0	18.0

**9-(Z)-Jerangolid E (177)**

Zu Alken **168** (15.0 mg, 67.0  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) wurde eine Lösung von Lacton (**R**)-**96d** (36.8 mg, 202  $\mu\text{mol}$ , 3 Äq.) in  $\text{C}_7\text{F}_8$  (150  $\mu\text{L}$ ) zugegeben. Das Lösungsmittel wurde durch Einleitung von Ar für 5 min entgast. Es wurde GRELA-Katalysator **174** (1.7 mg, 2.5  $\mu\text{mol}$ , 0.04 Äq.) zugegeben, der Reaktionskolben mit einem Glasstopfen verschlossen und auf 70 °C erhitzt. Nach 2 h wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, GRELA-Katalysator **174** (5.0 mg, 7.4  $\mu\text{mol}$ , 0.11 Äq.) zugegeben und für weitere 2 h bei 70 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und durch säulenchromatographische Reinigung (PE/EE 5:1) der Mischung konnte 9-(Z)-Jerangolid E (**177**) (19.6 mg, 54.0  $\mu\text{mol}$ , 80%) gewonnen werden. Analytisch reines 9-(Z)-Jerangolid E (**177**) wurde durch semipräparative RP-HPLC Reinigung in mehreren Läufen erhalten (durchschnittliche Rückgewinnungsrate: 95%; isolierte Ausbeute: 76%).

**RP-HPLC-Reinigung:** Säule: Kinetex C18 5  $\mu\text{m}$ , 100 Å; Gradient ( $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ ): 95/5-60/40-25/75-5/95, 5-10-24-30 min; Flußrate: 20 mL/min.

**$^1\text{H}$ -NMR** (500 MHz, MeOD):  $\delta$  5.85 (ddd,  $J = 15.5, 6.1, 1.1$  Hz, 1 H, 7-CH), 5.61 (ddd,  $J = 15.6, 6.7, 1.5$  Hz, 1 H, 6-CH), 5.00 (ddq,  $J = 9.5, 1.9, 0.9$  Hz, 1 H, 9-CH), 4.80 (ddd,

$J = 11.3, 6.7, 4.4$  Hz, 1 H, 5-CH), 4.14 (dd,  $J = 11.5, 2.2$  Hz, 1 H, 11-CH), 3.84 (s, 3 H, OMe), 3.30 (m, 1 H, 8-CH), 2.93 (ddd,  $J = 9.3, 7.3, 2.8$  Hz, 1 H, 15-CH), 2.84 (ddq,  $J = 17.3, 4.1, 1.0$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.63 (ddq,  $J = 17.4, 11.5, 1.9$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.81 (dddd,  $J = 12.5, 3.3, 3.3, 3.3$ , 1 H, 13-CH<sub>2</sub>), 1.74-1.65 (m, 1 H, 16-CH<sub>2</sub>), 1.71 (dd,  $J = 1.2, 2.1$  Hz, 3 H, 18-CH<sub>3</sub>), 1.70 (d,  $J = 1.7$  Hz, 3 H, 21-CH<sub>3</sub>), 1.65-1.56 (m, 1 H, 12-CH<sub>2</sub>), 1.48-1.38 (m, 2 H, 12-CH<sub>2</sub>, 16-CH<sub>2</sub>), 1.38-1.32 (m, 1 H, 14-CH), 1.39-1.23 (m, 1 H, 13-CH<sub>2</sub>), 1.05 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, 20-CH<sub>3</sub>), 0.93 (dd,  $J = 7.3, 7.3$  Hz, 3 H, 17-CH<sub>3</sub>), 0.84 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3 H, 22-CH<sub>3</sub>) ppm.

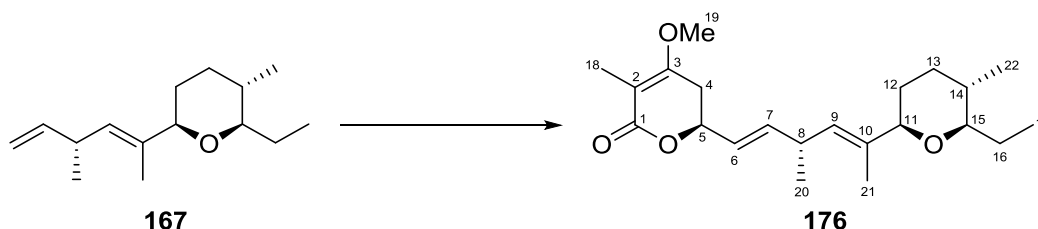
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, MeOD):  $\delta$  171.4 (q, 1-C), 169.4 (q, 3-C), 140.7 (t, 7-CH), 137.8 (q, 10-C), 130.5 (t, 9-CH), 126.5 (t, 6-CH), 102.6 (q, 2-C), 85.5 (t, 15-CH), 78.1 (t, 11-CH), 77.0 (t, 5-CH), 56.3 (p, 19-CH<sub>3</sub>), 35.5 (t, 8-CH), 35.2 (t, 14-CH), 34.1 (s, 13-CH<sub>2</sub>), 31.8 (s, 12-CH<sub>2</sub>), 30.3 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 26.8 (s, 16-CH<sub>2</sub>), 21.3 (p, 20-CH<sub>3</sub>), 19.5 (p, 21-CH<sub>3</sub>), 18.1 (p, 22-CH<sub>3</sub>), 9.7 (p, 17-CH<sub>3</sub>), 8.8 (p, 18-CH<sub>3</sub>) ppm.

HRMS [ESI]  $m/z$  für C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber. 385.2355 gef. 385.2351.

$[\alpha]_D^{20}$ : +3.8 ( $c = 0.3$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

$R_f$  (PE/EE 5:1): 0.37.

### 5-*epi*-Jerangolid E (**176**)



Alken **167** (12.0 mg, 53.9  $\mu$ mol, 1 Äq.) wurde zusammen mit Lacton (*S*)-**96d** (20.0 mg, 110  $\mu$ mol, 2 Äq.) in C<sub>7</sub>F<sub>8</sub> (150  $\mu$ L) gelöst. Das Lösungsmittel wurde durch Einleitung von Ar für 5 min entgast. Es wurde GRELA-Katalysator **174** (5.4 mg, 8.0  $\mu$ mol, 0.15 Äq.) zugegeben, der Reaktionskolben mit einem Glasstopfen verschlossen und auf 88 °C erhitzt. Nach 2 h wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, GRELA-Katalysator **174** (3.5 mg, 5.2  $\mu$ mol, 0.10 Äq.) zugegeben und für weitere 2 h bei 88 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde ges. NaCl-Lösung zugegeben, dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels und säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 5:1) wurde Produkt **176** (10.7 mg, 29.5  $\mu$ mol, 55%) erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.77 (ddd,  $J = 15.5, 6.5, 0.9$  Hz, 1 H, 7-CH), 5.53 (ddd,  $J = 15.5, 6.8, 1.4$  Hz, 1 H, 6-CH), 5.22 (m, 1 H, 9-CH), 4.73 (m, 1 H, 5-CH), 3.78 (s, 3 H, OMe), 3.59 (bd,  $J = 10.9$  Hz, 1 H, 11-CH), 3.12 (m, 1 H, 8-CH), 2.90 (m, 1 H, 15-CH), 2.64-2.49 (m, 2 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.80 (m, 1 H, 13- $\text{CH}_2$ ), 1.78 (m, 3 H, 18- $\text{CH}_3$ ), 1.72-1.63 (m, 2 H, 12- $\text{CH}_2$ , 16- $\text{CH}_2$ ), 1.64 (m, 3 H, 21- $\text{CH}_3$ ), 1.46-1.30 (m, 3 H, 12- $\text{CH}_2$ , 16- $\text{CH}_2$ , 14-CH), 1.22-1.18 (m, 1 H, 13- $\text{CH}_2$ ), 1.07 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, 20- $\text{CH}_3$ ), 0.95 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3 H, 17- $\text{CH}_3$ ), 0.81 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3 H, 22- $\text{CH}_3$ ) ppm.

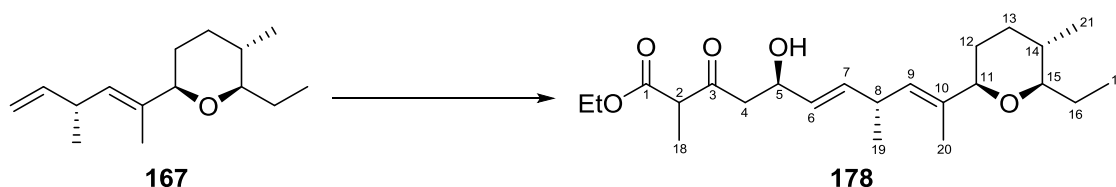
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168.4 (q, 1-C), 165.1 (q, 3-C), 139.6 (t, 7-CH), 136.6 (q, 10-C), 127.1 (t, 9-CH), 124.7 (t, 6-CH), 103.5 (q, 2-C), 84.4 (t, 15-CH), 81.6 (t, 11-CH), 75.2 (t, 5-CH), 55.4 (p, OMe), 34.7 (t, 8-CH), 34.3 (t, 14-CH), 33.1 (s, 13- $\text{CH}_2$ ), 30.8 (s, 12- $\text{CH}_2$ ), 29.7 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 25.9 (s, 16- $\text{CH}_2$ ), 20.5 (p, 20- $\text{CH}_3$ ), 17.7 (p, 22- $\text{CH}_3$ ), 13.3 (p, 21- $\text{CH}_3$ ), 9.5 (p, 17- $\text{CH}_3$ ), 8.8 (p, 18- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 385.2349 gef. 385.2350,  $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber. 363.2530 gef. 363.2531.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +3.9 ( $c = 0.4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

$R_f$  (PE/EE 3:1): 0.57.

**Ethyl-(5*R*,6*E*,8*R*,9*E*)-10-((5*S*,6*R*)-6-ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-5-hydroxy-2,8-dimethyl-3-oxoundeca-6,9-dienoat (178)**



Alken **167** (18 mg, 80  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) und Ester (**R**)-**99d** (43 mg, 200  $\mu\text{mol}$ , 2.5 Äq.) wurden in  $\text{C}_7\text{F}_8$  (180  $\mu\text{L}$ ) gelöst. Das Lösungsmittel wurde durch Einleitung von Ar für 5 min entgast. Es wurde GRELA-Katalysator **174** (4.5 mg, 6.7  $\mu\text{mol}$ , 0.08 Äq.) zugegeben, der Reaktionskolben mit einem Glasstopfen verschlossen und auf 62 °C erhitzt. Nach 2 h wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, neuer GRELA-Katalysator **174** (2.7 mg, 4.0  $\mu\text{mol}$ , 0.05 Äq.) zugegeben und für weitere 2 h bei 62 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und durch säulenchromatographische Reinigung (Pentan/ $\text{Et}_2\text{O}$ /EE 8:1:1→6:1:1) konnte Produkt **178** (27 mg, 68  $\mu\text{mol}$ , 86%) als Mischung von C-2 Epimeren gewonnen werden.

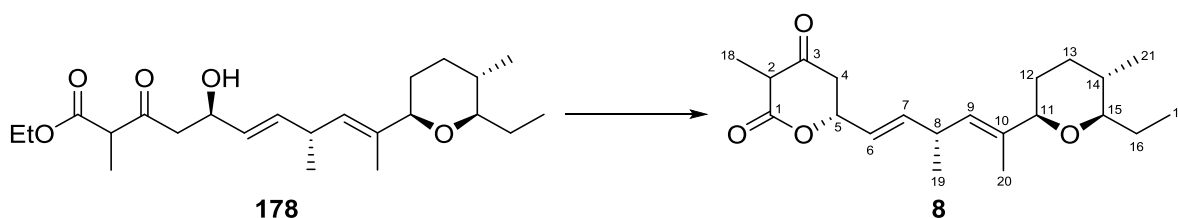
**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.65 (ddd,  $J = 15.4, 6.2, 1.1$  Hz, 1 H, 7-CH), 5.41, 5.40 (ddd,  $J = 15.5, 6.4, 1.6$  Hz, 1 H, 6-CH), 5.21 (ddq,  $J = 8.9, 1.2, 1.3$  Hz, 1 H, 9-CH), 4.55 (m, 1 H, 5-CH), 4.20, 4.20 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2 H, OEt), 3.59 (bd,  $J = 11.1$  Hz, 1 H, 11-CH), 3.53, 3.53 (q,  $J = 7.1$  Hz, 1 H, 2-CH), 3.08 (m, 1 H, 8-CH), 2.90 (ddd,  $J = 9.8, 7.4, 2.7$  Hz, 1 H, 15-CH), 2.82-2.68 (m, 2 H, 4- $\text{CH}_2$ ), 1.79 (m, 1 H, 13- $\text{CH}_2$ ), 1.73-1.65 (m, 1 H, 16- $\text{CH}_2$ ), 1.63 (d,  $J = 1.6$  Hz, 3 H, 20- $\text{CH}_3$ ), 1.62 (m, 1 H, 12- $\text{CH}_2$ ), 1.46-1.37 (m, 2 H, 12- $\text{CH}_2$ , 16- $\text{CH}_2$ ), 1.36-1.32 (m, 4 H, 14-CH, 18- $\text{CH}_3$ ), 1.27 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3 H, OEt), 1.27-1.17 (m, 1 H, 13- $\text{CH}_2$ ), 1.05 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, 19- $\text{CH}_3$ ), 0.95 (dd,  $J = 7.4, 7.4$  Hz, 3 H, 17- $\text{CH}_3$ ), 0.81 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3 H, 21- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  206.3 (q, 3-C), 170.3 (q, 1-C), 136.7, 136.7 (t, 7-CH), 136.4 (q, 10-C), 128.4, 128.3 (t, 6-CH), 127.9 (t, 9-CH), 84.5 (t, 15-CH), 82.0 (t, 11-CH), 68.8, 68.7 (t, 5-CH), 61.6 (s, OEt), 53.7, 53.6 (t, 2-CH), 48.4, 48.2 (s, 4- $\text{CH}_2$ ), 34.6 (t, 8-CH), 34.4 (t, 14-CH), 33.3 (s, 13- $\text{CH}_2$ ), 30.9 (s, 12- $\text{CH}_2$ ), 26.0 (s, 16- $\text{CH}_2$ ), 20.8 (p, 19- $\text{CH}_3$ ), 17.9 (p, 21- $\text{CH}_3$ ), 14.2 (p, OEt), 13.3 (p, 20- $\text{CH}_3$ ), 12.7, 12.6 (p, 18- $\text{CH}_3$ ), 9.6 (p, 17- $\text{CH}_3$ ) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_5\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 417.2617 gef. 417.2612.

**$R_f$**  (PE/EE 4:1): 0.30.

### Projerangolid (8)



Ketoester **178** (10 mg, 25.3  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) wurde in MeOH (535  $\mu\text{L}$ ) gelöst und bei 0 °C wurde fein gemörstertes  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (7.7 mg, 55.7  $\mu\text{mol}$ , 2.2 Äq.) zugegeben. Die Reaktion wurde 20 min bei Raumtemperatur gerührt, bevor sie durch Zugabe weniger Tropfen 0.1 M HCl beendet wurde. Das Lösungsmittel wurde vorsichtig bei 30 °C unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in wenig EtOAc aufgenommen und 0.05 M HCL wurde vorsichtig zugegeben, bis eine klare, farblose Lösung erhalten wurde. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (C8-RP, 12% C, 40-63  $\mu\text{m}$ , ACROS ORGANICS; MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$ +0.001% TFA, Gradient: 60-80% MeOH) wurde Projerangolid (**8**) (7.0 mg, 20.0  $\mu\text{mol}$ , 79%) als Mischung von C-2 Epimeren erhalten.

*Notiz:* Aufgrund der Thermolabilität und generellen Empfindlichkeit von Projerangolid musste die Verbindung sehr vorsichtig gehandhabt werden um Zersetzung zu vermeiden. Diese zeigte sich durch eine orange Verfärbung nach Lagerung bei Raumtemperatur. Reinigung mit nur minimal Verlusten durch Zersetzung konnte durch Säulenchromatographie an Umkehrphase erfolgreich erreicht werden. Weder bei Säulenchromatographie an Normalphase, noch bei der Reinigung mittels RP-HPLC wurden nennenswerte Mengen der reinen Verbindung erhalten.

Es ist bekannt, dass die 3-Methyldihydro-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dion-Einheit als Mischung aus C-2 Epimeren mit einem ungefähren Verhältnis von 6:1 vorliegt, was sich in einem zweiten Signalsatz im NMR-Spektrum äußert. Nur die Signale des Hauptstereoisomers sind im Weiteren aufgeführt. Der Signalsatz des anderen Stereoisomers ist im NMR-Spektrum markiert.

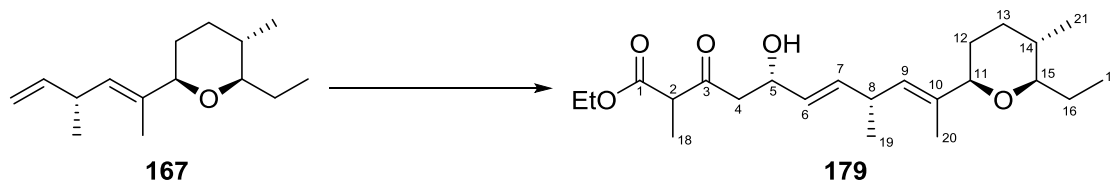
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.85 (ddd, *J* = 15.5, 6.1, 0.7 Hz, 1 H, 7-CH), 5.49 (ddd, *J* = 15.5, 6.8, 1.4 Hz, 1 H, 6-CH), 5.22 (m, 1 H, 9-CH), 5.14 (m, 1 H, 5-CH), 3.60 (bd, *J* = 11.2 Hz, 1 H, 11-CH), 3.57 (q, *J* = 6.5 Hz, 1 H, 2-CH), 3.15 (m, 1 H, 8-CH), 2.90 (ddd, *J* = 9.8, 7.4, 2.6 Hz, 1 H, 15-CH), 2.76 (dd, *J* = 18.8, 3.1 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.55 (dd, *J* = 18.9, 11.7 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.80 (m, 1 H, 13-CH<sub>2</sub>), 1.74-1.66 (m, 1 H, 16-CH<sub>2</sub>), 1.64 (d, *J* = 1.4 Hz, 3 H, 20-CH<sub>3</sub>), 1.67-1.61 (m, 1 H, 12-CH<sub>2</sub>), 1.46-1.38 (m, 2 H, 12-CH<sub>2</sub>, 16-CH<sub>2</sub>), 1.37 (d, *J* = 6.6 Hz, 3 H, 18-CH<sub>3</sub>), 1.39-1.32 (m, 1 H, 14-CH), 1.25-1.18 (m, 1 H, 13-CH<sub>2</sub>), 1.09 (d, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 19-CH<sub>3</sub>), 0.95 (dd, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 3 H, 17-CH<sub>3</sub>), 0.81 (d, *J* = 6.6 Hz, 3 H, 21-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 201.4 (q, 3-C), 169.8 (q, 1-C), 140.8 (t, 7-CH), 137.4 (q, 10-C), 126.8 (t, 9-CH), 123.1 (t, 6-CH), 84.5 (t, 15-CH), 81.8 (t, 11-CH), 74.8 (t, 5-CH), 51.9 (t, 2-CH), 43.5 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 34.7 (t, 8-CH), 34.4 (t, 14-CH), 33.3 (s, 13-CH<sub>2</sub>), 31.0 (s, 12-CH<sub>2</sub>), 26.0 (s, 16-CH<sub>2</sub>), 20.5 (p, 19-CH<sub>3</sub>), 17.9 (p, 21-CH<sub>3</sub>), 13.4 (p, 20-CH<sub>3</sub>), 9.6 (p, 17-CH<sub>3</sub>), 8.0 (p, 18-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber. 371.2193 gef. 371.2195, C<sub>21</sub>H<sub>33</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber. 349.2373 gef. 349.2376.

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1): 0.68.

**Ethyl-(5*S*,6*E*,8*R*,9*E*)-10-((5*S*,6*R*)-6-ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-5-hydroxy-2,8-dimethyl-3-oxoundeca-6,9-dienoat (**179**)**



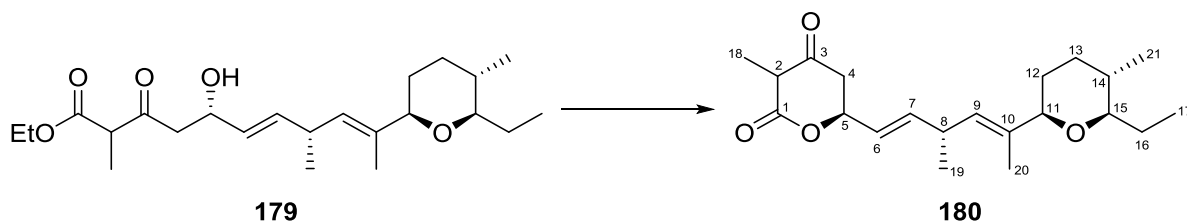
Alken **167** (15.0 mg, 67.0  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) und Ester (*S*)-**99d** (67 mg, 313  $\mu\text{mol}$ , 4.67 Äq.) wurden in  $\text{C}_7\text{F}_8$  (180  $\mu\text{L}$ ) gelöst. Das Lösungsmittel wurde durch Einleitung von Ar für 5 min entgast. Es wurde GRELA-Katalysator **174** (2.6 mg, 3.9  $\mu\text{mol}$ , 0.06 Äq.) zugegeben, der Reaktionskolben mit einem Glasstopfen verschlossen und auf 70 °C erhitzt. Nach 2 h wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, GRELA-Katalysator **174** (3.9 mg, 5.8  $\mu\text{mol}$ , 0.09 Äq.) zugegeben und für weitere 2 h bei 70 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und nach säulenchromatographische Reinigung (PE/EE 5:1) konnte Produkt **179** (19.7 mg, 50  $\mu\text{mol}$ , 75%) als Mischung von C-2 Epimeren gewonnen werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.64 (m, 1 H, 7-CH), 5.41, 5.40 (ddd,  $J = 15.5, 6.5, 1.4$  Hz, 1 H, 6-CH), 5.21 (m, 1 H, 9-CH), 4.54 (m, 1 H, 5-CH), 4.19 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2 H, OEt), 3.59 (bd,  $J = 11.1$  Hz, 1 H, 11-CH), 3.53, 3.52 (q,  $J = 7.2$  Hz, 1 H, 2-CH), 3.08 (m, 1 H, 8-CH), 2.90 (ddd,  $J = 9.7, 7.4, 2.6$  Hz, 1 H, 15-CH), 2.81-2.68 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.79 (m, 1 H, 13-CH<sub>2</sub>), 1.73-1.65 (m, 1 H, 16-CH<sub>2</sub>), 1.63 (d,  $J = 1.2$  Hz, 3 H, 20-CH<sub>3</sub>), 1.62 (m, 1 H, 12-CH<sub>2</sub>), 1.46-1.38 (m, 2 H, 12-CH<sub>2</sub>, 16-CH<sub>2</sub>), 1.36-1.32 (m, 4 H, 14-CH, 18-CH<sub>3</sub>), 1.27 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, OEt), 1.27-1.17 (m, 1 H, 13-CH<sub>2</sub>), 1.05 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, 19-CH<sub>3</sub>), 0.95 (dd,  $J = 7.4, 7.4$  Hz, 3 H, 17-CH<sub>3</sub>), 0.81 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3 H, 21-CH<sub>3</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  206.4 (q, 3-C), 170.4, 170.3 (q, 1-C), 136.8, 136.7 (t, 7-CH), 136.4 (q, 10-C), 128.4, 128.4 (t, 6-CH), 127.9 (t, 9-CH), 84.5 (t, 15-CH), 81.9 (t, 11-CH), 68.8, 68.7 (t, 5-CH), 61.7 (s, OEt), 53.7, 53.6 (t, 2-CH), 48.4, 48.2 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 34.7 (t, 8-CH), 34.4 (t, 14-CH), 33.3 (s, 13-CH<sub>2</sub>), 30.9 (s, 12-CH<sub>2</sub>), 26.0 (s, 16-CH<sub>2</sub>), 20.8 (p, 19-CH<sub>3</sub>), 17.9 (p, 21-CH<sub>3</sub>), 14.2 (p, OEt), 13.3 (p, 20-CH<sub>3</sub>), 12.7, 12.6 (p, 18-CH<sub>3</sub>), 9.6 (p, 17-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_5\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 417.2611 gef. 417.2600.

**$R_f$**  (PE/EE 5:1): 0.44.

**5-*epi*-Projerangolid (180)**

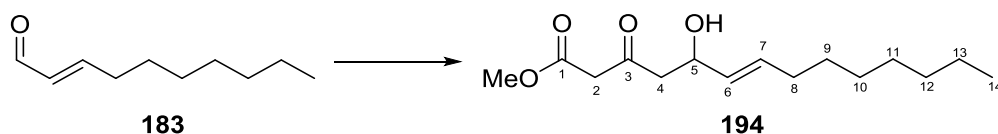
Ketoester **179** (9.3 mg, 24  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) wurde in MeOH (450  $\mu\text{L}$ ) bei Raumtemperatur gelöst und fein gemörstertes  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (6.5 mg, 47  $\mu\text{mol}$ , 2 Äq.) zugegeben. Nach 30 min wurde MeOH unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in wenig EtOAc aufgenommen und solange vorsichtig 0.05 M HCl zugegeben bis eine klare, farblose Lösung erhalten wurde. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde 5-*epi*-Projerangolid (**180**) (6.2 mg, 18  $\mu\text{mol}$ , 75%) als Mischung von C-2-Epimeren erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.84 (ddd,  $J = 15.4, 6.3, 0.8$  Hz, 1 H, 7-CH), 5.48 (ddd,  $J = 15.5, 6.8, 1.5$  Hz, 1 H, 6-CH), 5.22 (m, 1 H, 9-CH), 5.14 (m, 1 H, 5-CH), 3.60 (bd,  $J = 11.0$  Hz, 1 H, 11-CH), 3.57 (q,  $J = 6.5$  Hz, 1 H, 2-CH), 3.15 (m, 1 H, 8-CH), 2.90 (ddd,  $J = 9.4, 7.7, 2.4$  Hz, 1 H, 15-CH), 2.76 (dd,  $J = 19.1, 2.9$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.55 (dd,  $J = 19.0, 11.7$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 1.79 (m, 1 H, 13-CH<sub>2</sub>), 1.74-1.66 (m, 1 H, 16-CH<sub>2</sub>), 1.64 (d,  $J = 1.4$  Hz, 3 H, 20-CH<sub>3</sub>), 1.67-1.61 (m, 1 H, 12-CH<sub>2</sub>), 1.46-1.38 (m, 2 H, 12-CH<sub>2</sub>, 16-CH<sub>2</sub>), 1.37 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3 H, 18-CH<sub>3</sub>), 1.39-1.32 (m, 1 H, 14-CH), 1.25-1.18 (m, 1 H, 13-CH<sub>2</sub>), 1.09 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, 19-CH<sub>3</sub>), 0.95 (dd,  $J = 7.4, 7.4$  Hz, 3 H, 17-CH<sub>3</sub>), 0.81 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3 H, 21-CH<sub>3</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  201.4 (q, 3-C), 169.8 (q, 1-C), 141.0 (t, 7-CH), 137.3 (q, 10-C), 126.8 (t, 9-CH), 123.1 (t, 6-CH), 84.5 (t, 15-CH), 81.7 (t, 11-CH), 74.9 (t, 5-CH), 51.9 (t, 2-CH), 43.5 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 34.8 (t, 8-CH), 34.4 (t, 14-CH), 33.3 (s, 13-CH<sub>2</sub>), 31.0 (s, 12-CH<sub>2</sub>), 26.0 (s, 16-CH<sub>2</sub>), 20.6 (p, 19-CH<sub>3</sub>), 17.9 (p, 21-CH<sub>3</sub>), 13.5 (p, 20-CH<sub>3</sub>), 9.6 (p, 17-CH<sub>3</sub>), 8.0 (p, 18-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für  $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber. 371.2193 gef. 371.2188,  $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber. 349.2373 gef. 349.2368.

**$R_f$**  (PE/EE 3:1): 0.29.

**Methyl-(*E*)-5-hydroxy-3-oxotetradec-6-enoat (194)**

Zu einer Suspension aus NaH (880 mg, 22.0 mmol, 1.1 Äq., 60% in Mineralöl) in THF (50 mL) wurde Methylacetoacetat (2.86 mL, 20.0 mmol, 1 Äq.) bei 0 °C zugegeben. Nach 10 min wurde *n*BuLi (8.4 mL, 21.0 mmol, 1.05 Äq., 2.5 M in Hexan) so langsam zugegeben, dass die interne Temperatur unterhalb von 5 °C blieb. Das Reaktionsgemisch wurde 10 min bei 0 °C gerührt, bevor *trans*-2-Decenal **183** (3.67 mL, 20.0 mmol, 1 Äq.) zugegeben wurde und für weitere 30 min gerührt wurde. Die Reaktion wurde langsam auf 10 °C erwärmt, durch Zugabe von 6 M HCl (10 mL) beendet und langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde dreimal mit Et<sub>2</sub>O extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung bis zu pH 7 gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Filtration des Rohprodukts durch Kieselgel (PE/EE 3:1) lieferte das Produkt **194** (3.94 g, 14.6 mmol, 73%) in ausreichender Reinheit.

*Notiz:* Die analytischen Daten sind nur für das Haupttautomer angegeben.

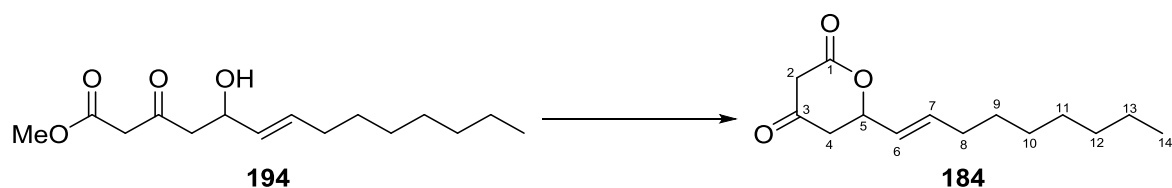
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.71 (m, 1 H, 7-CH), 5.46 (m, 1 H, 6-CH), 4.55 (m, 1 H, 5-CH), 3.74 (s, 3 H, OMe), 3.50 (s, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 2.75 (m, 2 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.01 (m, 2 H, 8-CH<sub>2</sub>), 1.40-1.20 (m, 10 H, 9-CH<sub>2</sub>, 10-CH<sub>2</sub>, 11-CH<sub>2</sub>, 12-CH<sub>2</sub>, 13-CH<sub>2</sub>), 0.88 (t, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 14-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 203.0 (q, 3-C), 167.5 (q, 1-C), 133.1 (t, 7-CH), 130.4 (t, 6-CH), 68.7 (t, 5-CH), 52.6 (p, OMe), 49.9 (s, 2-CH<sub>2</sub>), 49.9 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 32.3 (s, 8-CH<sub>2</sub>), 31.9 (s, 12-CH<sub>2</sub>), 29.3, 29.3, 29.1 (s, 9-CH<sub>2</sub>, 10-CH<sub>2</sub>, 11-CH<sub>2</sub>), 22.8 (s, 13-CH<sub>2</sub>), 14.2 (p, 14-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>O<sub>3</sub> [M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup>: ber. 253.1798 gef. 253.1791, C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>O<sub>4</sub> [M-H]<sup>-</sup>: ber. 269.1747 gef. 269.1749.

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 4:1): 0.19.



**(E)-6-(Non-1-en-yl)dihydro-2H-pyran-2,4(3H)-dion (184)**

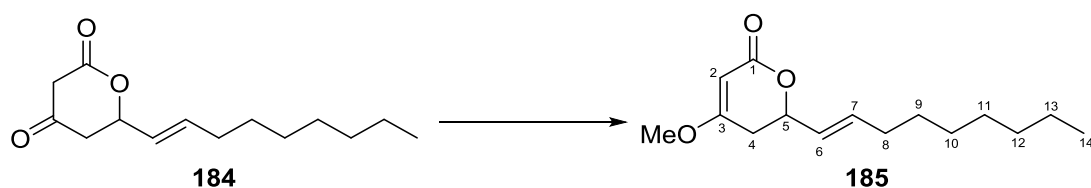
Ketoester **194** (1.90 g, 7.03 mmol, 1 Äq.) wurde in 1 M NaOH (15 mL) bei 0 °C für 1 h gerührt. Bei Zugabe von konz. HCl (3 mL) bildete sich ein gelbliches Präzipitat und es wurde für weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde H<sub>2</sub>O (10 mL) zugegeben und der entstandene Feststoff abfiltriert. Der Filterkuchen wurde mit H<sub>2</sub>O (5 mL) gewaschen und der zurückbleibende Feststoff im Hochvakuum für 12 h getrocknet. Produkt **184** (1.60 g, 6.71 mmol, 95%) wurde als gelblicher Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.88 (m, 1 H, 7-CH), 5.55 (m, 1 H, 6-CH), 5.11 (m, 1 H, 5-CH), 3.49 (m, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 2.77 (dd, *J* = 18.2, 3.7 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.63 (dd, *J* = 18.2, 9.5 Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.09 (m, 2 H, 8-CH<sub>2</sub>), 1.43-1.22 (m, 10 H, 9-CH<sub>2</sub>, 10-CH<sub>2</sub>, 11-CH<sub>2</sub>, 12-CH<sub>2</sub>, 13-CH<sub>2</sub>), 0.88 (t, *J* = 6.9 Hz, 3 H, 14-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 200.0 (q, 3-C), 167.2 (q, 1-C), 137.6 (t, 7-CH), 125.3 (t, 6-CH), 75.7 (t, 5-CH), 47.1 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 43.6 (s, 2-CH<sub>2</sub>), 32.3, (s, 8-CH<sub>2</sub>), 31.9, (s, 12-CH<sub>2</sub>), 29.2, 29.2, 28.8 (s, 9-CH<sub>2</sub>, 10-CH<sub>2</sub>, 11-CH<sub>2</sub>), 22.8 (s, 13-CH<sub>2</sub>), 14.2 (p, 14-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI] *m/z* für C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber. 239.1642 gef. 239.1638.

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1): 0.44.

**(E)-4-Methoxy-6-(non-1-en-1-yl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on (185)**

Lacton **184** (500 mg, 2.10 mmol, 1 Äq.) wurde in Aceton (11 mL) gelöst, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (348 mg, 2.52 mmol, 1.2 Äq.) und MeI (196 µL, 3.15 mmol, 1.5 Äq.) zugegeben und für 23 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 1 M HCl beendet. Es wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/EE 12:1) wurde Produkt **185** (50.0 mg, 0.20 mmol, 9.5%) erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.83 (m, 1 H, 7-CH), 5.56 (m, 1 H, 6-CH), 5.15 (m, 1 H, 2-CH), 4.82 (m, 1 H, 5-CH), 3.74 (s, 3 H, OMe), 2.56 (ddd,  $J = 17.0, 11.1, 1.3$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.42 (dd,  $J = 17.1, 4.3$  Hz, 1 H, 4-CH<sub>2</sub>), 2.06 (m, 2 H, 8-CH<sub>2</sub>), 1.41-1.22 (m, 10 H, 9-CH<sub>2</sub>, 10-CH<sub>2</sub>, 11-CH<sub>2</sub>, 12-CH<sub>2</sub>, 13-CH<sub>2</sub>), 0.88 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, 14-CH<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172.5 (q, 3-C), 167.1 (q, 1-C), 135.9 (t, 7-CH), 126.4 (t, 6-CH), 90.5 (t, 2-CH), 76.2 (t, 5-CH), 56.0 (p, OMe), 33.3 (s, 4-CH<sub>2</sub>), 32.1 (s, 8-CH<sub>2</sub>), 31.8 (s, 12-CH<sub>2</sub>), 29.1, 29.1, 28.7 (s, 9-CH<sub>2</sub>, 10-CH<sub>2</sub>, 11-CH<sub>2</sub>), 22.6 (s, 13-CH<sub>2</sub>), 14.1 (p, 14-CH<sub>3</sub>) ppm.

**HRMS** [ESI]  $m/z$  für C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber. 253.1798 gef. 253.1801.

## 6. Literaturverzeichnis

- [1] H. Reichenbach, G. Höfle, K. Gerth, P. Washausen, *P PCT Int. Appl.* **1997**, WO97/31912.
- [2] K. Gerth, P. Washausen, G. Hofle, H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 71–75.
- [3] S. M. Ringel, R. C. Greenough, S. Roemer, D. Connor, A. L. Gutt, B. Blair, G. Kanter, null von Strandtmann, *J. Antibiot.* **1977**, *30*, 371–375.
- [4] G. Höfle, H. Steinmetz, K. Gerth, H. Reichenbach, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, *1991*, 941–945.
- [5] S. C. Wenzel, R. Müller, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 1211–1224.
- [6] B. Julien, Z.-Q. Tian, R. Reid, C. D. Reeves, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 1277–1286.
- [7] P. Knauth, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 1182–1190.
- [8] L. Vetcher, H. G. Menzella, T. Kudo, T. Motoyama, L. Katz, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 3734–3736.
- [9] K. Kojima, Y. Takano, A. Yoshimi, C. Tanaka, T. Kikuchi, T. Okuno, *Mol. Microbiol.* **2004**, *53*, 1785–1796.
- [10] Z.-Q. Tian, Z. Wang, Y. Xu, C. Q. Tran, D. C. Myles, Z. Zhong, J. Simmons, L. Vetcher, L. Katz, Y. Li, S. J. Shaw, *ChemMedChem* **2008**, *3*, 963–969.
- [11] J. Morschhäuser, *Pharm. Unserer Zeit* **2003**, *32*, 124–128.
- [12] S. M. Ringel, *Mycopathologia* **1990**, *109*, 75–87.
- [13] E. S. Sattely, M. A. Fischbach, C. T. Walsh, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, *25*, 757–793.
- [14] S. Smith, S.-C. Tsai, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 1041–1072.
- [15] G. Berkhan, F. Hahn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 14240–14244; *Angew. Chem.* **2014**, *53*, 14240–14244.
- [16] G. Berkhan, C. Merten, C. Holec, F. Hahn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 13589–13592; *Angew. Chem.* **2016**, *55*, 13589–13592.
- [17] S. Friedrich, F. Hemmerling, F. Lindner, A. Warnke, J. Wunderlich, G. Berkhan, F. Hahn, *Molecules* **2016**, *21*, 1443.
- [18] J. Pospíšil, I. E. Markó, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3516–3517.
- [19] J. Pospíšil, T. Kumamoto, I. E. Markó, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3357–3360; *Angew. Chem.* **2006**, *45*, 3357–3360.
- [20] S. Hanessian, T. Focken, R. Oza, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3172–3175.
- [21] A. Ahmed, E. K. Hoegenauer, V. S. Enev, M. Hanbauer, H. Kaehlig, E. Ohler, J. Mulzer, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3026–3042.
- [22] N. Kawai, J.-M. Lagrange, M. Ohmi, J. 'ichi Uenishi, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4530–4537.
- [23] P. Liu, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10772–10773.
- [24] S. M. Barry, G. L. Challis, *ACS Catal.* **2013**, *3*, 2362–2370.
- [25] L. P. Wackett, *Enzyme Microb. Technol.* **2002**, *31*, 577–587.
- [26] N. J. Cosper, D. M. Eby, A. Kounosu, N. Kurosawa, E. L. Neidle, D. M. Kurtz, T. Iwasaki, R. A. Scott, *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* **2002**, *11*, 2969–2973.
- [27] D. J. Ferraro, L. Gakhar, S. Ramaswamy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, *338*, 175–190.
- [28] M. Senda, S. Kishigami, S. Kimura, M. Fukuda, T. Ishida, T. Senda, *J. Mol. Biol.* **2007**, *373*, 382–400.
- [29] B. C. Axcell, P. J. Geary, *Biochem. J.* **1975**, *146*, 173–183.
- [30] D. T. Gibson, J. R. Koch, R. E. Kallio, *Biochemistry* **1968**, *7*, 2653–2662.
- [31] A. Karlsson, J. V. Parales, R. E. Parales, D. T. Gibson, H. Eklund, S. Ramaswamy, *Science* **2003**, *299*, 1039–1042.

- [32] C. Perry, E. L. C. de Los Santos, L. M. Alkhalaf, G. L. Challis, *Nat. Prod. Rep.* **2018**, 35, 622–632.
- [33] R. E. Parales, J. V. Parales, D. T. Gibson, *J. Bacteriol.* **1999**, 181, 1831–1837.
- [34] B. M. Martins, T. Svetlitchnaia, H. Dobbek, *Struct. Lond. Engl. 1993* **2005**, 13, 817–824.
- [35] A. Fürstner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 3582–3603; *Angew. Chem.* **2003**, 42, 3582–3603.
- [36] D. X. Hu, D. M. Withall, G. L. Challis, R. J. Thomson, *Chem. Rev.* **2016**, 116, 7818–7853.
- [37] P. K. Sydor, S. M. Barry, O. M. Odulate, F. Barona-Gomez, S. W. Haynes, C. Corre, L. Song, G. L. Challis, *Nat. Chem.* **2011**, 3, 388–392.
- [38] D. M. Withall, S. W. Haynes, G. L. Challis, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137, 7889–7897.
- [39] S. M. Salem, P. Kancharla, G. Florova, S. Gupta, W. Lu, K. A. Reynolds, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 4565–4574.
- [40] T. Kawasaki, F. Sakurai, S. Nagatsuka, Y. Hayakawa, *J. Antibiot.* **2009**, 62, 271–276.
- [41] P. E. Hammer, D. S. Hill, S. T. Lam, K. H. Van Pée, J. M. Ligon, *Appl. Environ. Microbiol.* **1997**, 63, 2147–2154.
- [42] K. H. Van Pée, O. Salcher, F. Lingens, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, 19, 828–829; *Angew. Chem.* **1980**, 19, 828–829.
- [43] J. Lee, M. Simurdiak, H. Zhao, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 36719–36727.
- [44] J.-K. Lee, E.-L. Ang, H. Zhao, *J. Bacteriol.* **2006**, 188, 6179–6183.
- [45] J. Lee, H. Zhao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 622–625; *Angew. Chem.* **2006**, 45, 622–625.
- [46] A. L. Lukowski, D. C. Ellinwood, M. E. Hinze, R. J. DeLuca, J. Du Bois, S. Hall, A. R. H. Narayan, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 11863–11869.
- [47] C. Gally, B. M. Nestl, B. Hauer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 12952–12956; *Angew. Chem.* **2015**, 54, 12952–12956.
- [48] L. Wang, A. Parnell, C. Williams, N. A. Bakar, M. R. Challand, M. W. van der Kamp, T. J. Simpson, P. R. Race, M. P. Crump, C. L. Willis, *Nat. Catal.* **2018**, 968–976.
- [49] A.-W. Struck, M. L. Thompson, L. S. Wong, J. Micklefield, *ChemBioChem* **2012**, 13, 2642–2655.
- [50] L. Wessjohann, A.-K. Bauer, M. Dippe, J. Ley, T. Geißler, in *Appl. Biocatal. Fundam. Sci. Ind. Appl.*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2016**.
- [51] W. He, L. Wu, Q. Gao, Y. Du, Y. Wang, *Curr. Microbiol.* **2006**, 52, 197–203.
- [52] K. Himeno, K. J. Rosengren, T. Inoue, R. H. Perez, M. L. Colgrave, H. S. Lee, L. Y. Chan, S. T. Henriques, K. Fujita, N. Ishibashi, T. Zendo, P. Wilaipun, J. Nakayama, V. Leelawatcharamas, H. Jikuya, D. J. Craik, K. Sonomoto, *Biochemistry* **2015**, 54, 4863–4876.
- [53] B. Busch, C. Hertweck, *Phytochemistry* **2009**, 70, 1833–1840.
- [54] R. J. Cox, A. Al-Fahad, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2013**, 17, 532–536.
- [55] N. Gaitatzis, B. Silakowski, B. Kunze, G. Nordsiek, H. Blöcker, G. Höfle, R. Müller, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 13082–13090.
- [56] M. A. Skiba, M. M. Bivins, J. R. Schultz, S. M. Bernard, W. D. Fiers, Q. Dan, S. Kulkarni, P. Wipf, W. H. Gerwick, D. H. Sherman, C. C. Aldrich, J. L. Smith, *ACS Chem. Biol.* **2018**, 3221–3228.
- [57] R. W. Woodard, M. D. Tsai, H. G. Floss, P. A. Crooks, J. K. Coward, *J. Biol. Chem.* **1980**, 255, 9124–9127.
- [58] J. D. Finkelstein, *J. Nutr. Biochem.* **1990**, 1, 228–237.
- [59] H. K. Chenault, E. S. Simon, G. M. Whitesides, *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* **1988**, 6, 221–270.

- [60] M. Thomsen, S. B. Vogensen, J. Buchardt, M. D. Burkart, R. P. Clausen, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 7606–7610.
- [61] G. Lukinavicius, V. Lapiene, Z. Stasevskij, C. Dalhoff, E. Weinhold, S. Klimasauskas, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2758–2759.
- [62] W. Peters, S. Willnow, M. Duisken, H. Kleine, T. Macherey, K. E. Duncan, D. W. Litchfield, B. Lüscher, E. Weinhold, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5170–5173; *Angew. Chem.* **2010**, *49*, 5170–5173.
- [63] R. Wang, W. Zheng, H. Yu, H. Deng, M. Luo, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7648–7651.
- [64] T. Osborne, R. L. W. Roska, S. R. Rajski, P. R. Thompson, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4574–4575.
- [65] B. W. K. Lee, H. G. Sun, T. Zang, B. J. Kim, J. F. Alfaro, Z. S. Zhou, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3642–3643.
- [66] V. Masevičius, M. Nainytė, S. Klimašauskas, *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* **2016**, *64*, 1.36.1–13.
- [67] R. Wang, K. Islam, Y. Liu, W. Zheng, H. Tang, N. Lailler, G. Blum, H. Deng, M. Luo, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 1048–1056.
- [68] S. Singh, J. Zhang, T. D. Huber, M. Sunkara, K. Hurley, R. D. Goff, G. Wang, W. Zhang, C. Liu, J. Rohr, S. G. Van Lanen, A. J. Morris, J. S. Thorson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 3965–3969; *Angew. Chem.* **2014**, *53*, 3965–3969.
- [69] D. F. Iwig, A. T. Grippe, T. A. McIntyre, S. J. Booker, *Biochemistry* **2004**, *43*, 13510–13524.
- [70] Y. Kumar, M. Goodfellow, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2008**, *58*, 1369–1378.
- [71] R. N. Saunders, M. S. Metcalfe, M. L. Nicholson, *Kidney Int.* **2001**, *59*, 3–16.
- [72] D. Lebowitz, O. Anak, T. Sahmoud, J. Klimovsky, I. Elmroth, T. Haas, J. Posluszny, S. Saletan, W. Berg, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2013**, *1291*, 14–32.
- [73] B. J. C. Law, A.-W. Struck, M. R. Bennett, B. Wilkinson, J. Micklefield, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 2885–2892.
- [74] M. A. Gregory, H. Hong, R. E. Lill, S. Gaisser, H. Petkovic, L. Low, L. S. Sheehan, I. Carletti, S. J. Ready, M. J. Ward, A. L. Kaja, A. J. Weston, I. R. Challis, P. F. Leadlay, C. J. Martin, B. Wilkinson, R. M. Sheridan, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3565–3568.
- [75] J. L. Hoffmann, *Biochemistry* **1986**, *25*, 4444–4449.
- [76] J. K. Coward, E. P. Slisz, *J. Med. Chem.* **1973**, *16*, 460–463.
- [77] S. Mordhorst, J. Siegrist, M. Müller, M. Richter, J. N. Andexer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 4037–4041; *Angew. Chem.* **2017**, *56*, 4037–4041.
- [78] M. Fontecave, M. Atta, E. Mulliez, *Trends Biochem. Sci.* **2004**, *29*, 243–249.
- [79] J. Siegrist, S. Aschwanden, S. Mordhorst, L. Thöny-Meyer, M. Richter, J. N. Andexer, *ChemBioChem* **2015**, *16*, 2576–2579.
- [80] F. Muttach, A. Rentmeister, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1917–1920; *Angew. Chem.* **2016**, *55*, 1917–1920.
- [81] F. Lindner, S. Friedrich, F. Hahn, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 14091–14101.
- [82] T. E. Smith, M. Djang, A. J. Velander, C. W. Downey, K. A. Carroll, S. Van Alphen, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2317–2320.
- [83] R. W. Bates, L. Li, K. Palani, W. Phetsang, J. K. Loh, *Asian J. Org. Chem.* **2014**, *3*, 792–796.
- [84] M. Capet, F. David, L. Bertin, J. C. Hardy, *Synth. Commun.* **1995**, *25*, 3323–3327.
- [85] W. Oppolzer, I. Rodriguez, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 1275–1281.
- [86] A. B. Smith, K. Basu, T. Bosanac, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14872–14874.
- [87] P. A. Grieco, M. Nishizawa, *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1717–1720.
- [88] P. A. Grieco, S. Gilman, M. Nishizawa, *J. Org. Chem.* **1976**, *8*, 1485–1486.
- [89] S. A. Snyder, D. S. Treitler, A. P. Brucks, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14303–14314.

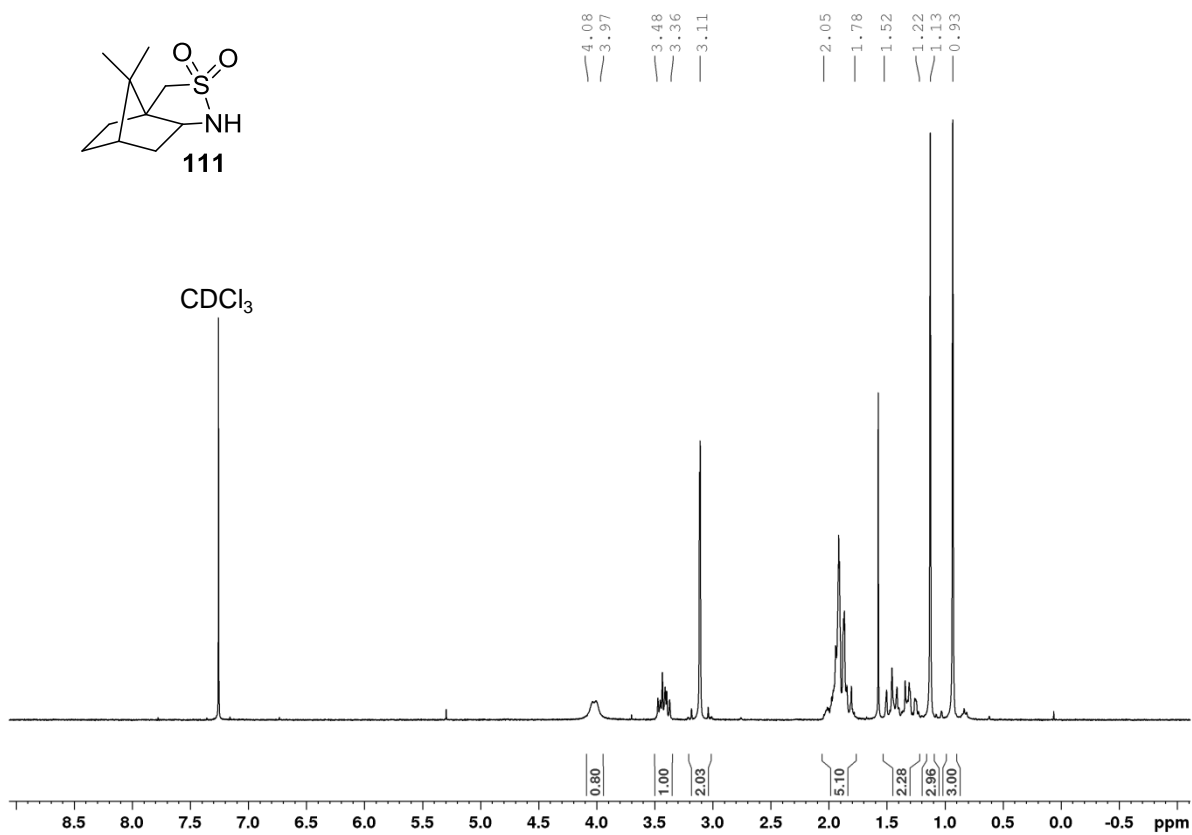
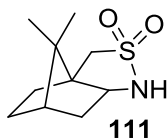
- [90] R. M. Ide, M. Costa, P. M. Imamura, *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, *17*, 417–420.
- [91] Y. Naruta, Y. Nishigaichi, K. Maruyama, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1203–1205.
- [92] Y. Naruta, Y. Nishigaichi, K. Maruyama, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1991**, 831–839.
- [93] V. Van Rheenen, R. C. Kelly, D. Y. Cha, *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 1973–1976.
- [94] W. Yu, Y. Mei, Y. Kang, Z. Hua, Z. Jin, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3217–3219.
- [95] M. J. McKennon, A. I. Meyers, K. Drauz, M. Schwarm, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3568–3571.
- [96] D. Delaunay, L. Toupet, M. L. Corre, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6604–6607.
- [97] M. T. Crimmins, K. Chaudhary, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 775–777.
- [98] M. T. Crimmins, M. Shamszad, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 149–152.
- [99] Y. Nagao, Y. Hagiwara, T. Kumagai, M. Ochiai, T. Inoue, K. Hashimoto, E. Fujita, *J. Org. Chem.* **1986**, *12*, 2391–2393.
- [100] Y.-S. Feng, W. Wu, Z.-Q. Xu, Y. Li, M. Li, H.-J. Xu, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 2113–2120.
- [101] Y. Kobuke, J. Yoshida, *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 367–370.
- [102] A. I. Scott, C. J. Wiesner, S.-K. Chung, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *21*, 6277–6278.
- [103] D. W. Brooks, L. D.-L. Lu, S. Masamune, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, *18*, 72; *Angew. Chem.* **1979**, *18*, 72.
- [104] H.-S. Oh, J.-S. Yun, K.-H. Nah, H.-Y. Kang, D. H. Sherman, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3369–3379.
- [105] D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *22*, 4155–4156.
- [106] K. Omura, D. Swern, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1651–1660.
- [107] T. T. Tidwell, *Synthesis* **1990**, *1990*, 857–870.
- [108] W. P. Griffith, S. V. Ley, G. P. Whitcombe, A. D. White, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1987**, 1625–1627.
- [109] E. J. Corey, G. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 399–402.
- [110] J. R. Parikh, W. v. E. Doering, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *21*, 5505–5507.
- [111] M. Frigerio, M. Santagostino, S. Sputore, *J. Org. Chem.* **1999**, *12*, 4537–4538.
- [112] R. E. Ireland, L. Liu, *J. Org. Chem.* **1993**, *10*, 2899.
- [113] R. M. Moslin, T. F. Jamison, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15106–15107.
- [114] K. C. Nicolaou, S. P. Ellery, J. S. Chen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7140–7165; *Angew. Chem.* **2009**, *48*, 7140–7165.
- [115] P. Girard, J. L. Namy, H. B. Kagan, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 2693–2698.
- [116] M. Ono, T. Imamoto, *Chem. Lett.* **1987**, 501–502.
- [117] G. N. Sheldrake, N. Soissons, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 789–791.
- [118] M. Szostak, M. Spain, D. J. Procter, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3049–3059.
- [119] G. A. Molander, J. B. Etter, L. S. Harring, P. J. Thorel, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8036–8045.
- [120] A. S. Pilcher, P. DeShong, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6901–6905.
- [121] C. Jasper, R. Wittenberg, M. Quitschalle, J. Jakupovic, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 479–482.
- [122] S. Wünsch, B. Breit, *Chem. - Eur. J.* **2015**, *21*, 2358–2363.
- [123] H. J. Reich, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 5471–5491.
- [124] F. E. Romesberg, M. P. Bernstein, J. H. Gilchrist, A. T. Harrison, D. J. Fuller, D. B. Collum, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3475–3483.
- [125] P. R. Blakemore, W. J. Cole, P. J. Kociński, A. Morley, *Synlett* **1998**, *1998*, 26–28.
- [126] K. Ishigai, H. Fuwa, K. Hashizume, R. Fukazawa, Y. Cho, M. Yotsu-Yamashita, M. Sasaki, *Chem. - Eur. J.* **2013**, *19*, 5276–5288.
- [127] K. Tsubone, K. Hashizume, H. Fuwa, M. Sasaki, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 548–551.

- [128] D. J. Nelson, S. Manzini, C. A. Urbina-Blanco, S. P. Nolan, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 10355–10375.
- [129] A. K. Chatterjee, T.-L. Choi, D. P. Sanders, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11360–11370.
- [130] K. Grela, S. Harutyunyan, A. Michrowska, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 4038–4040; *Angew. Chem.* **2002**, 41, 4038–4040.
- [131] C. Samojłowicz, M. Bieniek, A. Pazio, A. Makal, K. Woźniak, A. Poater, L. Cavallo, J. Wójcik, K. Zdanowski, K. Grela, *Chem. - Eur. J.* **2011**, 17, 12981–12993.
- [132] F. Guth, *Masterarbeit: Totalsynthese verschiedener Jerangolid-Derivate zur Aufklärung von dessen Biosynthese mittels Enzymexperimenten*, Universität Bayreuth, **2019**.
- [133] A. Peil, *Masterarbeit: In vitro Studien der Rieske-[2Fe-2S]-Cluster Enzyme JerP und JerL der Jerangolid-Biosynthese*, Universität Bayreuth, **2017**.
- [134] K. D. Koehntop, J. P. Emerson, L. Que, *J. Biol. Inorg. Chem. JBIC Publ. Soc. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, 10, 87–93.
- [135] E. L. Hegg, L. Que, *Eur. J. Biochem.* **1997**, 250, 625–629.
- [136] B. Kauppi, K. Lee, E. Carredano, R. E. Parales, D. T. Gibson, H. Eklund, S. Ramaswamy, *Struct. Lond. Engl. 1993* **1998**, 6, 571–586.
- [137] H. J. Kim, D. R. Winge, *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, 1827, 627–636.
- [138] K. Egorova, G. Antranikian, *Curr. Opin. Microbiol.* **2005**, 8, 649–655.
- [139] J. A. Littlechild, *Biochem. Soc. Trans.* **2011**, 39, 155–158.
- [140] D. E. Graham, C. L. Bock, C. Schalk-Hihi, Z. J. Lu, G. D. Markham, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 4055–4059.
- [141] Z. J. Lu, G. D. Markham, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 16624–16631.
- [142] J. Schlesier, J. Siegrist, S. Gerhardt, A. Erb, S. Blaesi, M. Richter, O. Einsle, J. N. Andexer, *BMC Struct. Biol.* **2013**, 13, 22.
- [143] S. Friedrich, *Dissertation: Untersuchungen zur Biosynthese von Polyketiden - Studien zur in-vitro-Aktivität der Tailoring-Enzyme aus der Jerangolid-Biosynthese*, Leibniz Universität Hannover, **2015**.

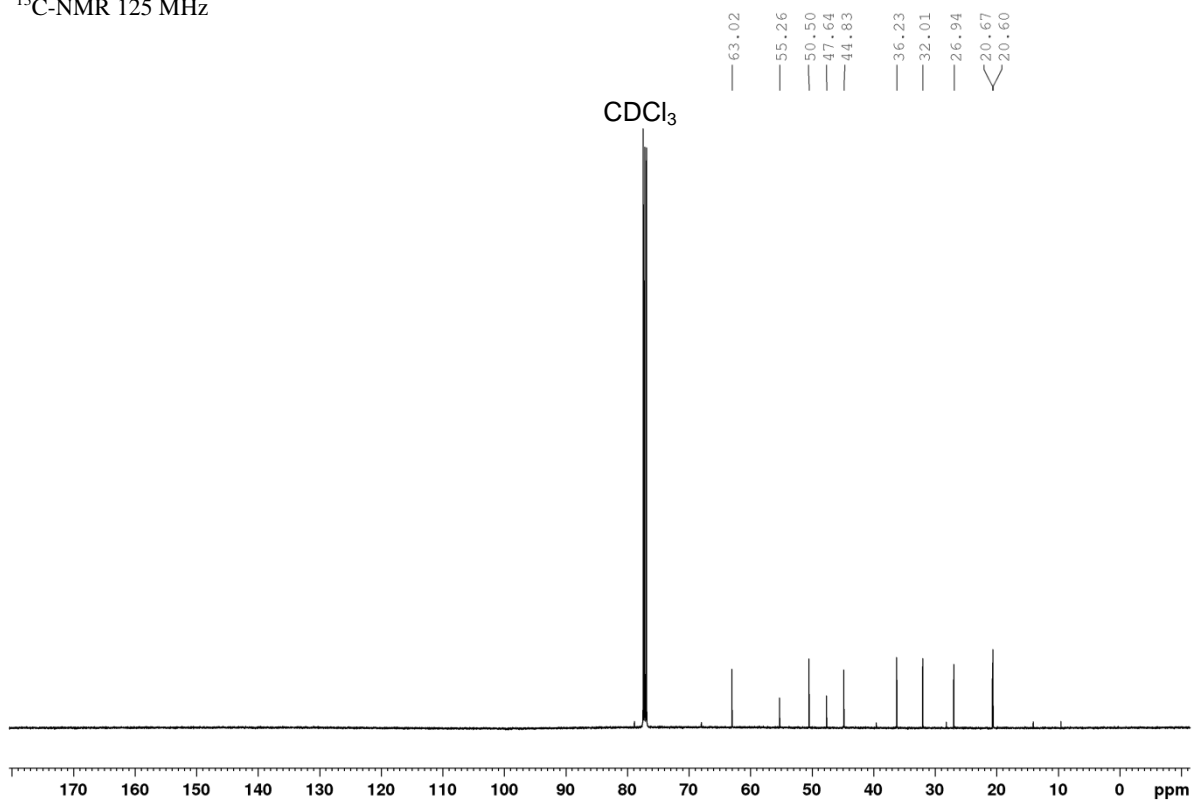
## 7. Anhang

### (6S)-Camphorsultam (111)

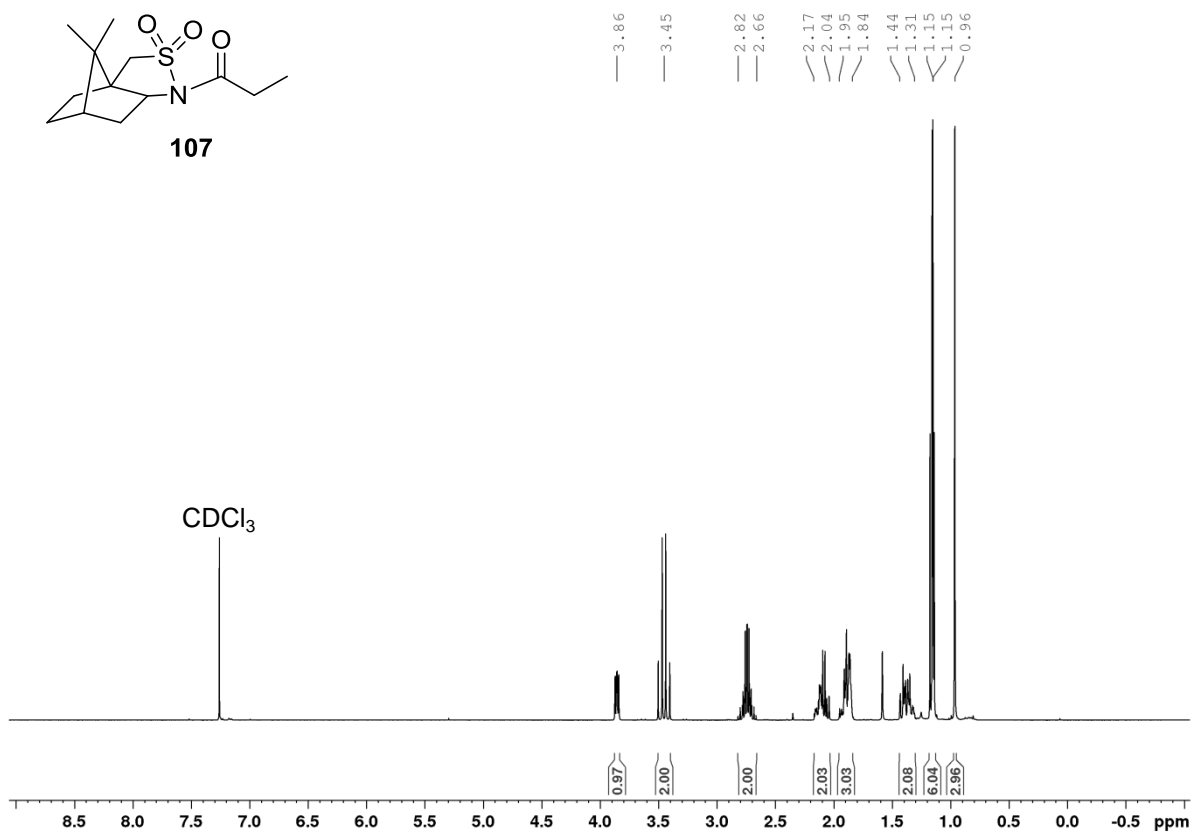
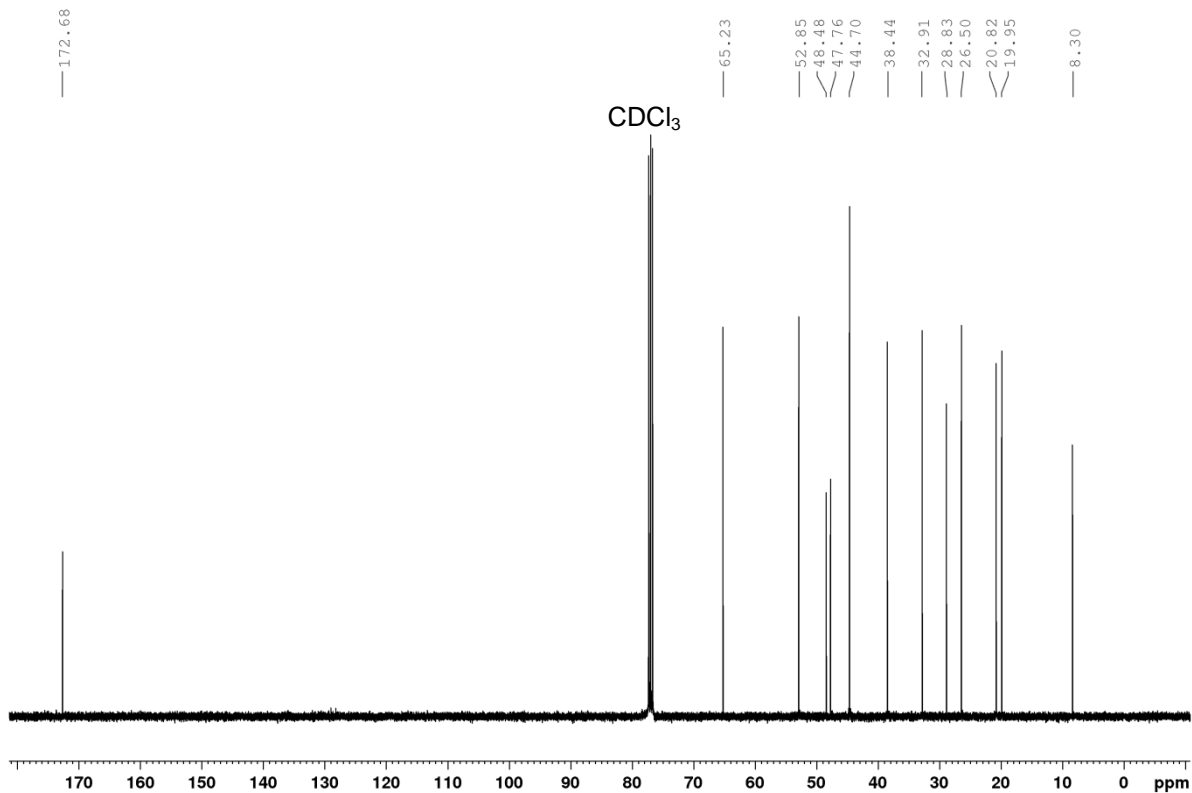
$^1\text{H-NMR}$  200 MHz

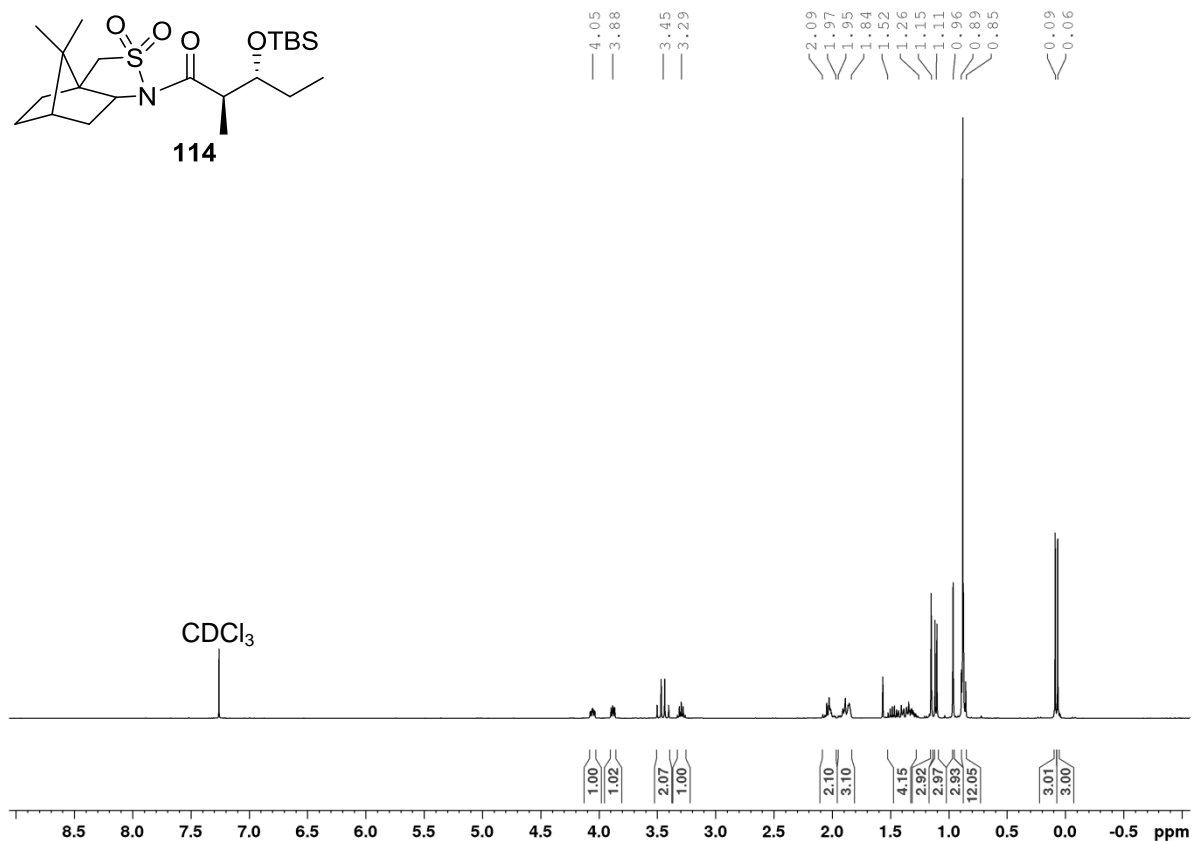
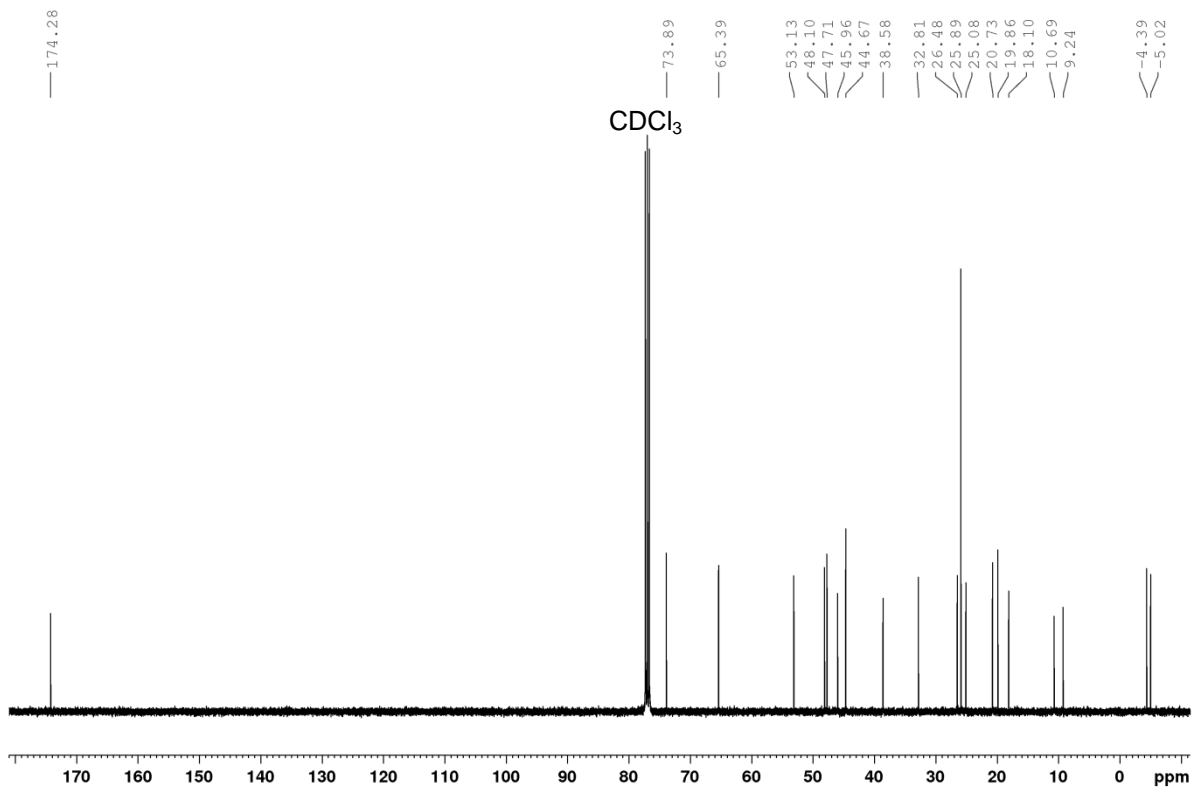


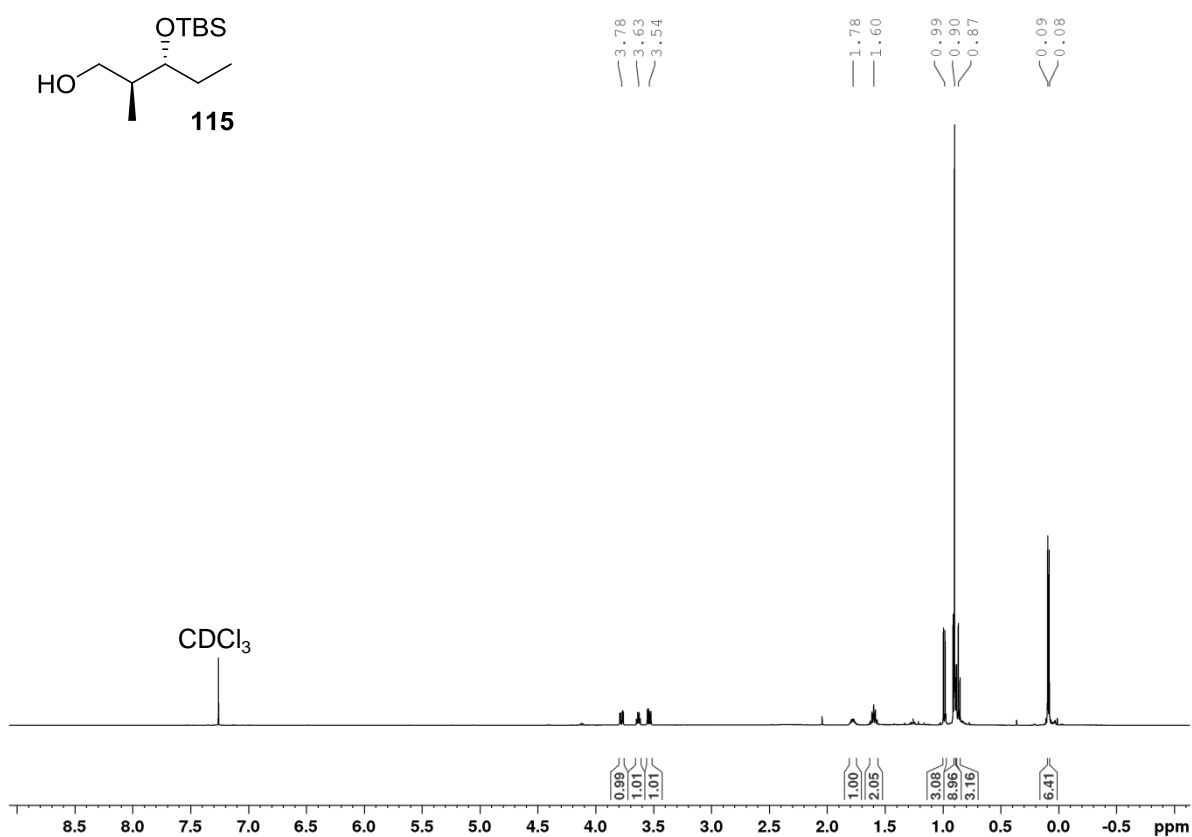
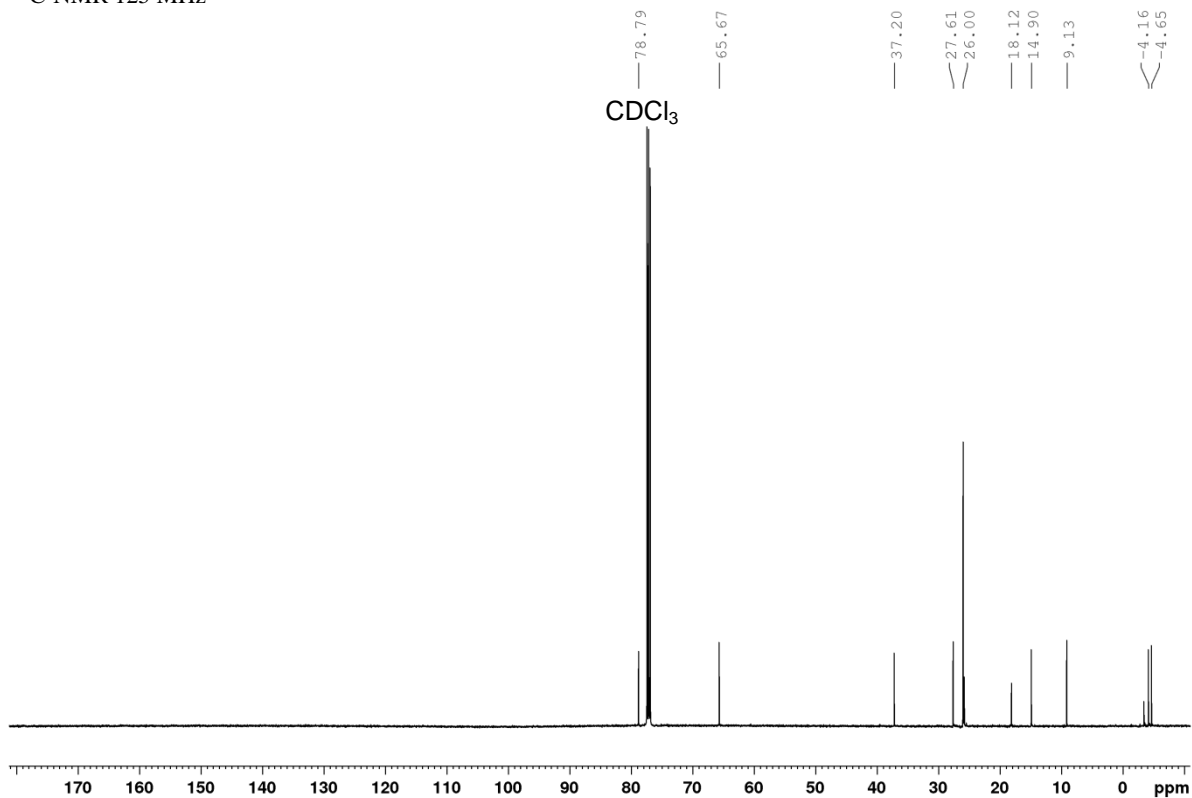
$^{13}\text{C-NMR}$  125 MHz

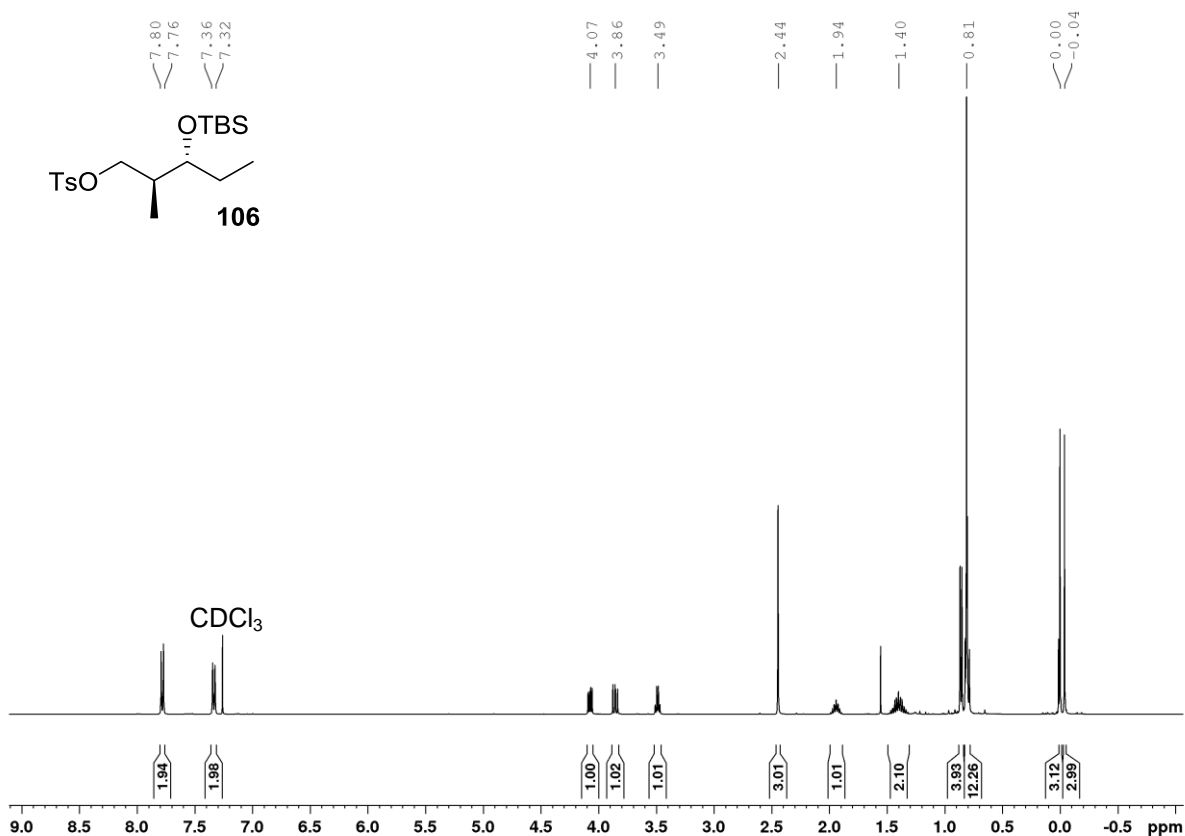
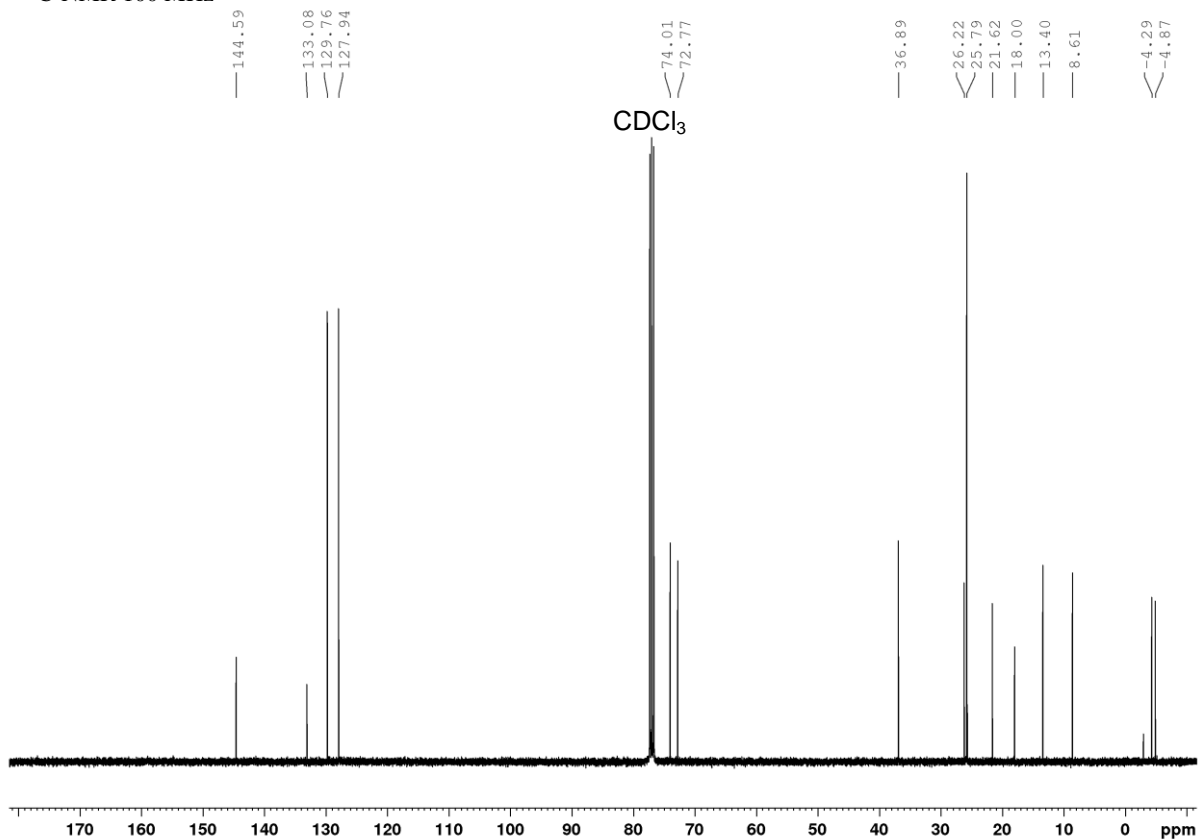


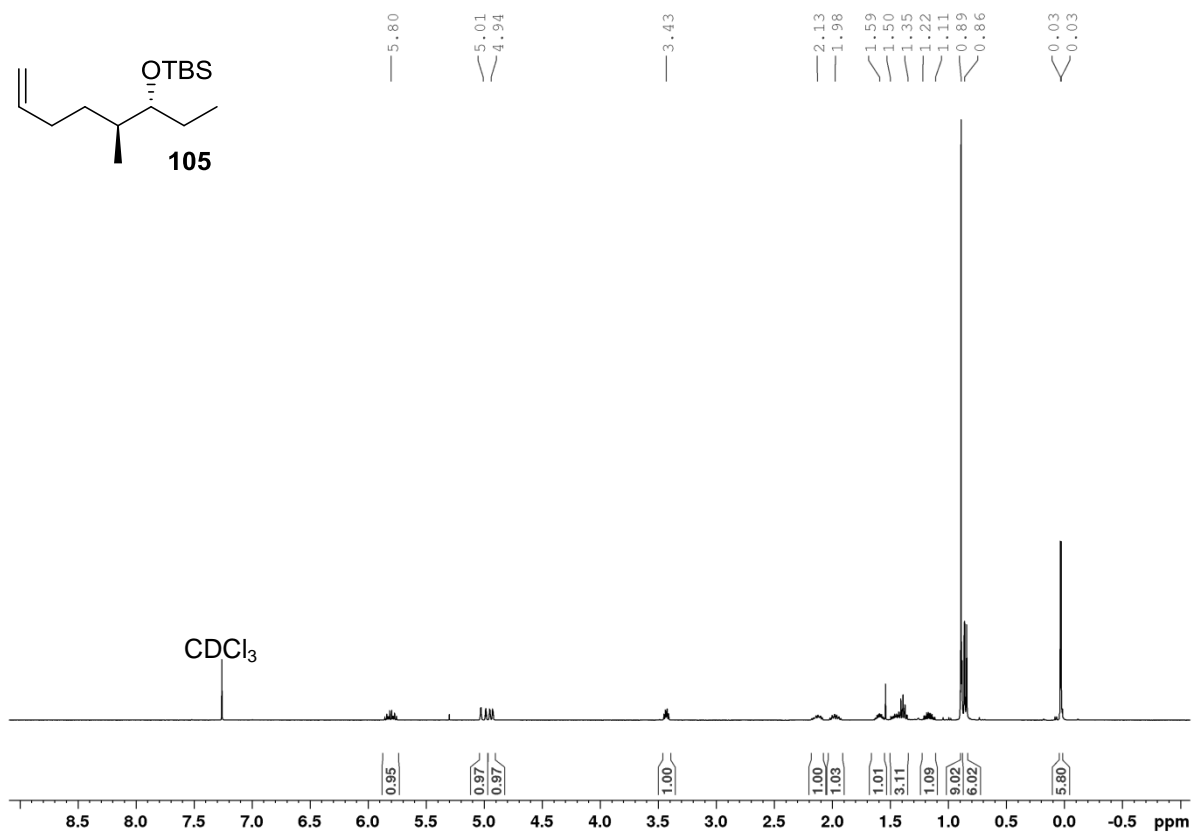
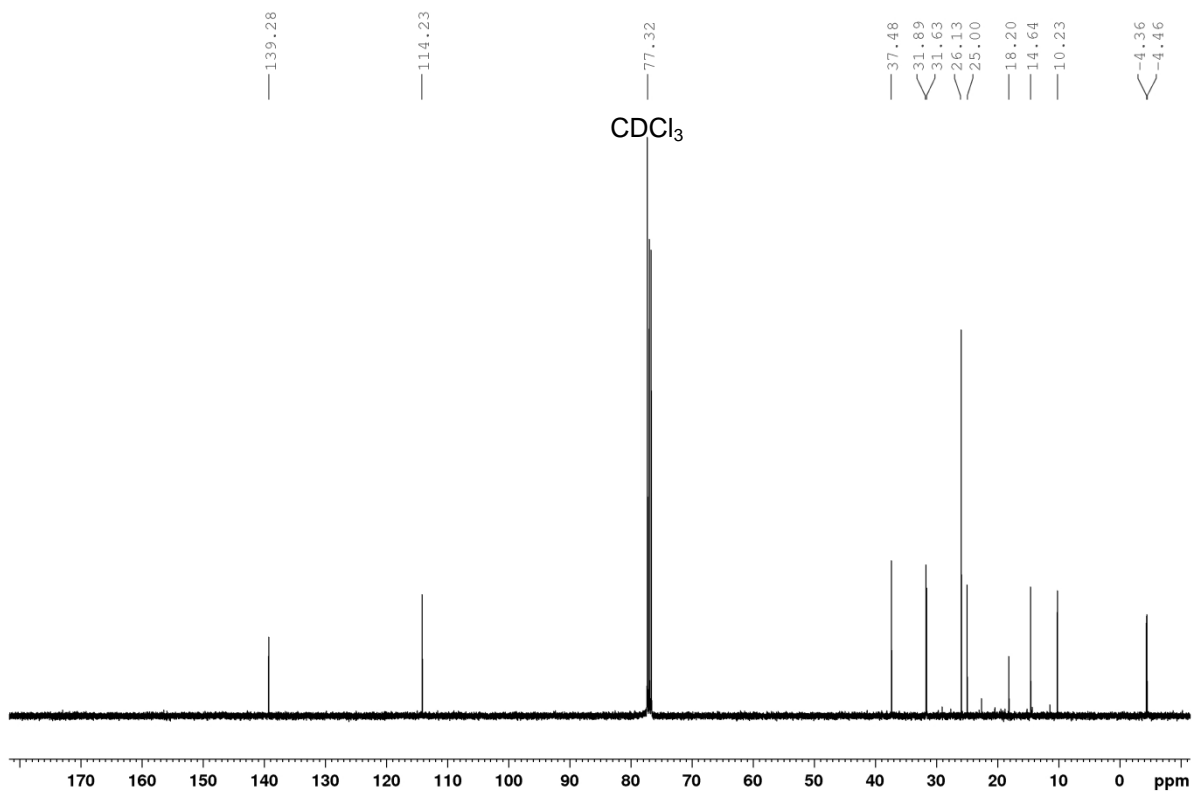


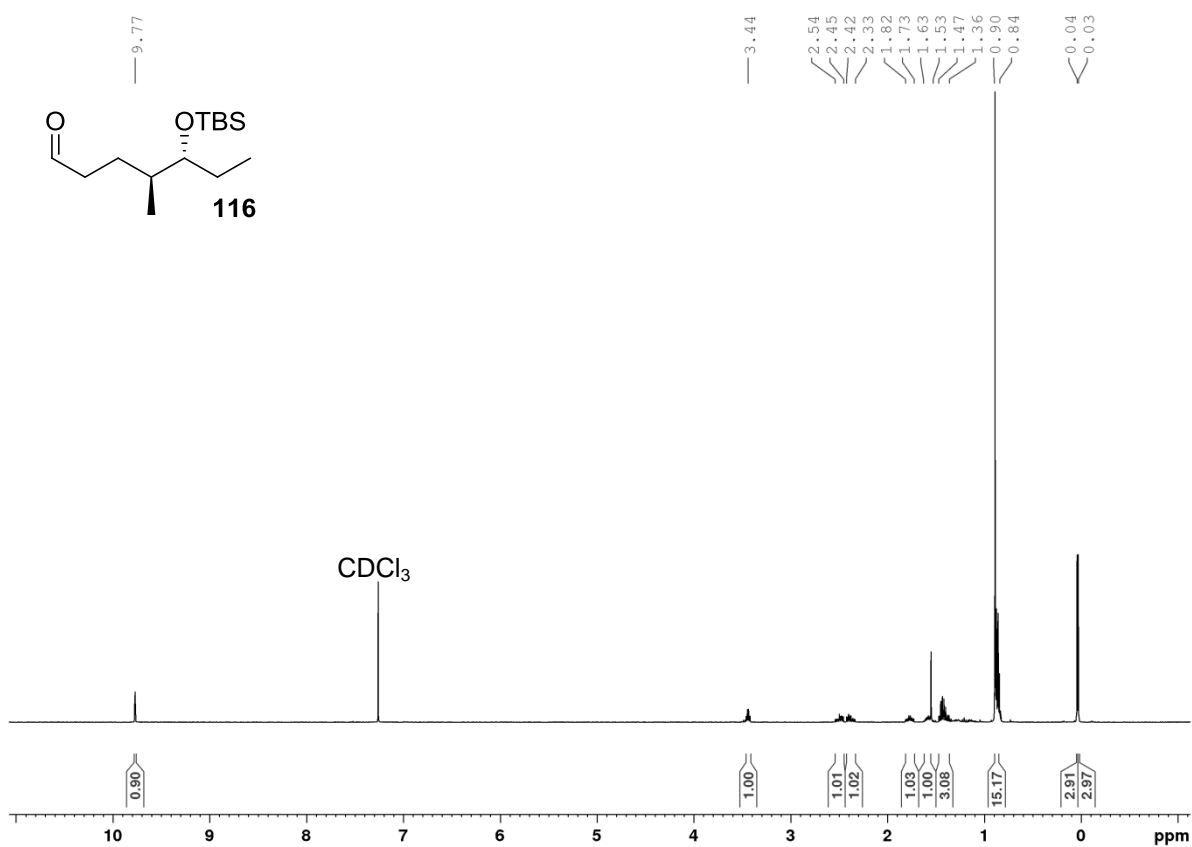
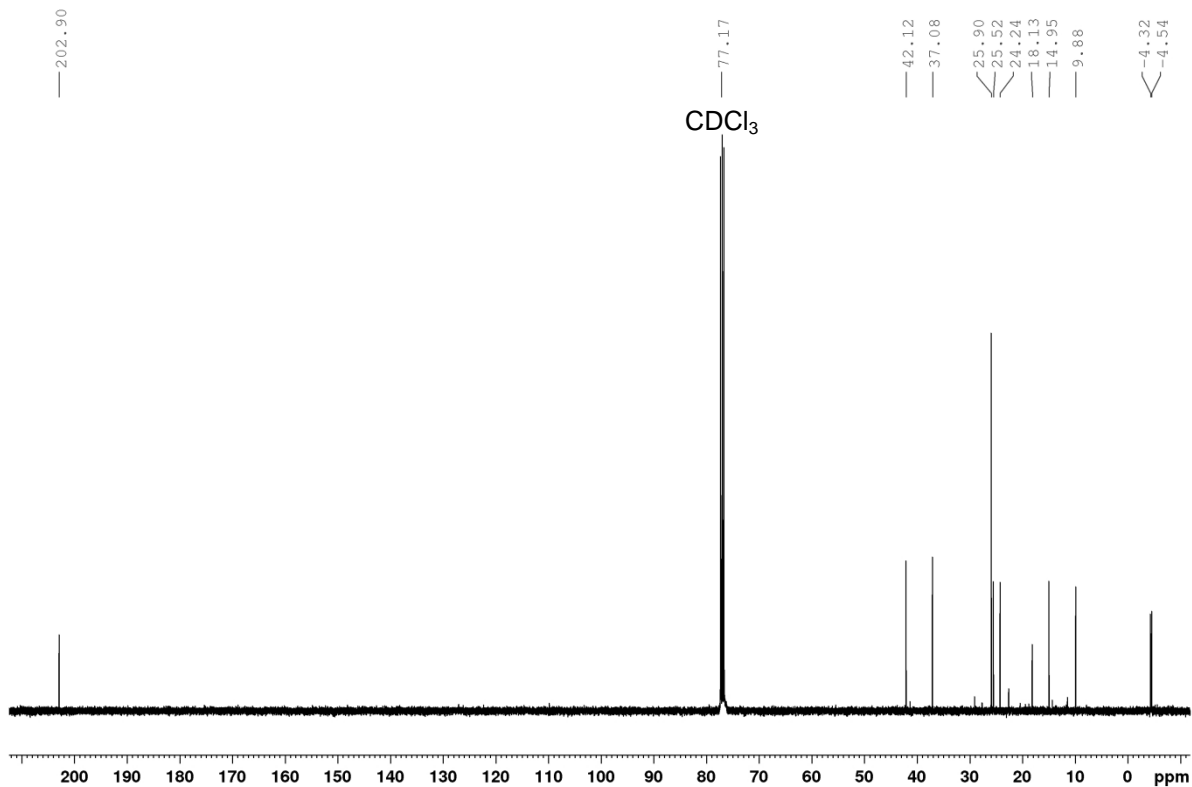
**N-Propionylbornan-10,2-sultam (107)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

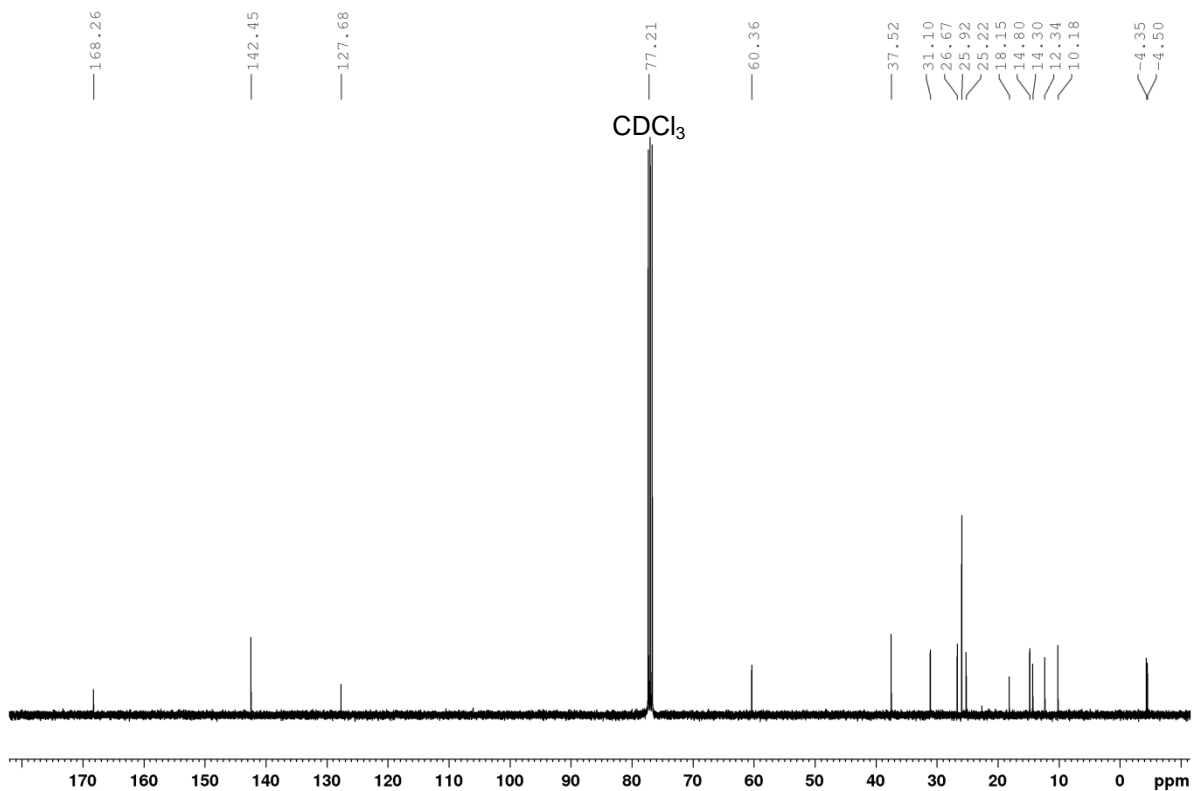
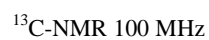
***N*-(2*R*,3*R*)-3((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylpentanalbornan-10,2-sultam (114)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

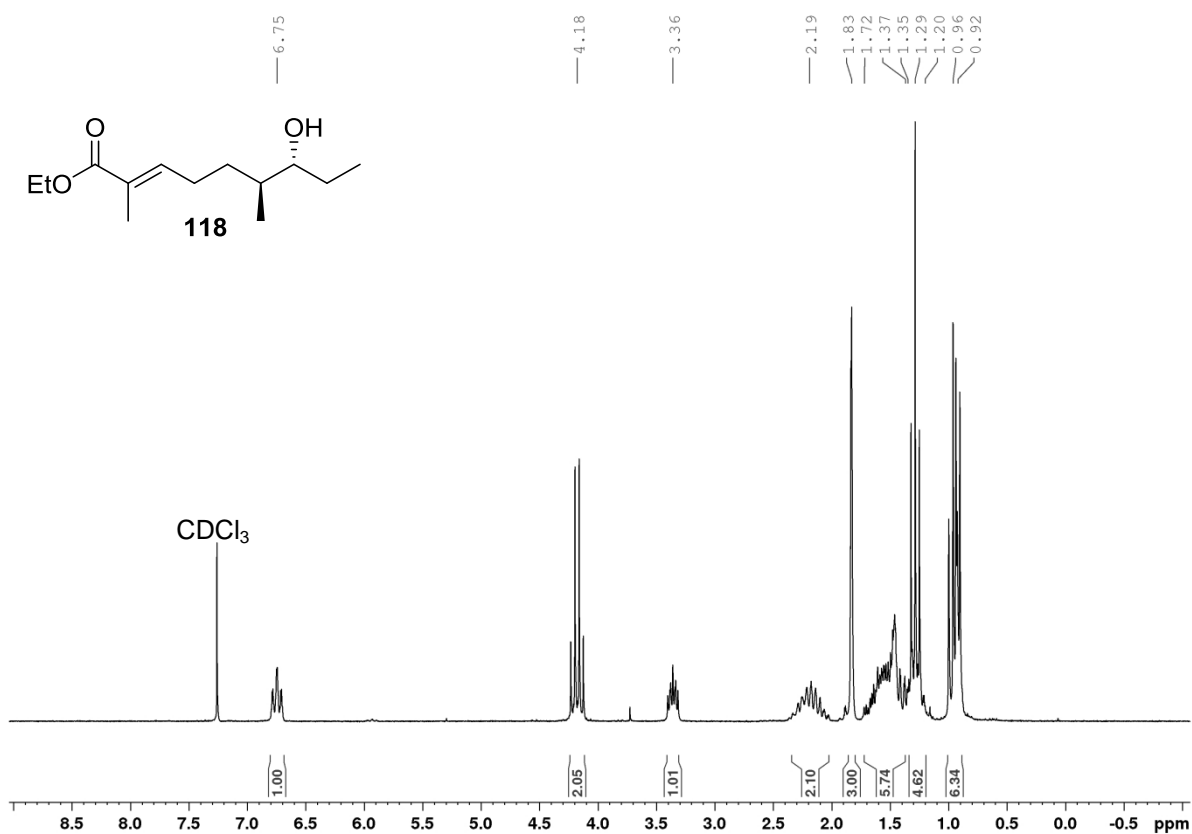
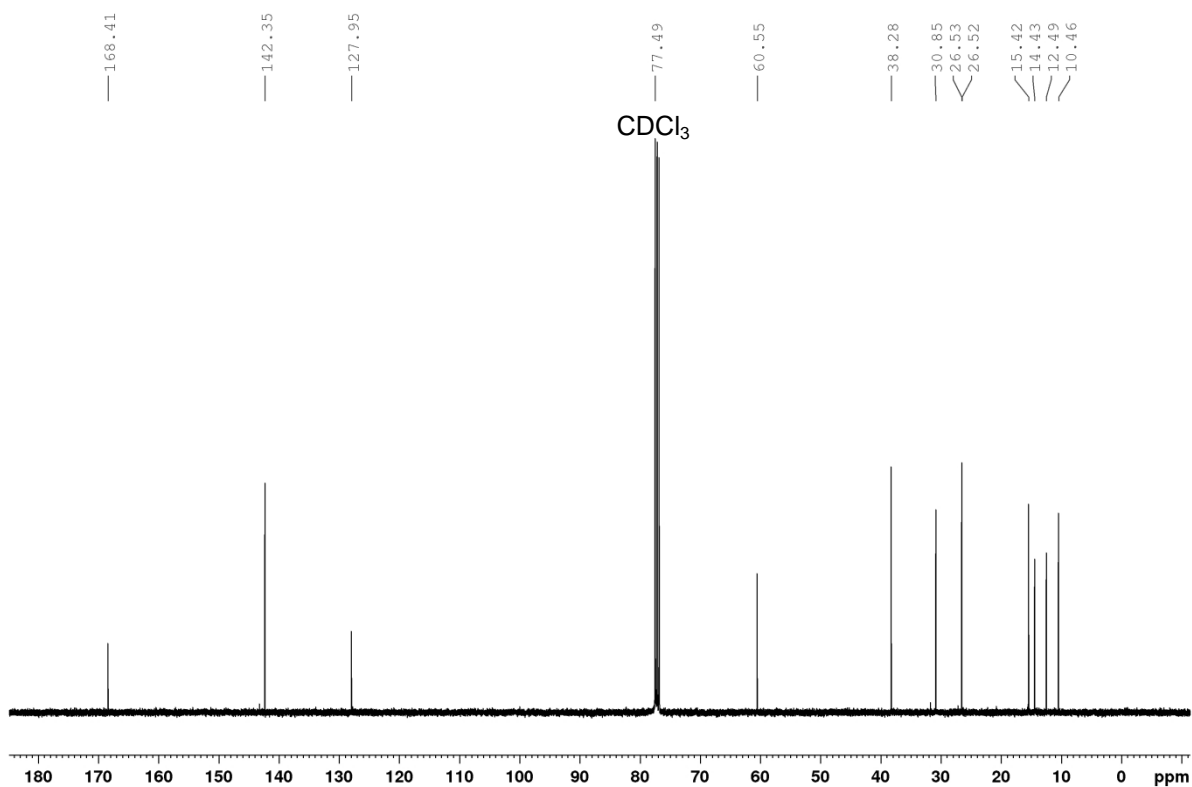
**(2*S*,3*R*)-3-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylpentan-1-ol (115)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(2*S*,3*R*)-3-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylpentyltosylat (106)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

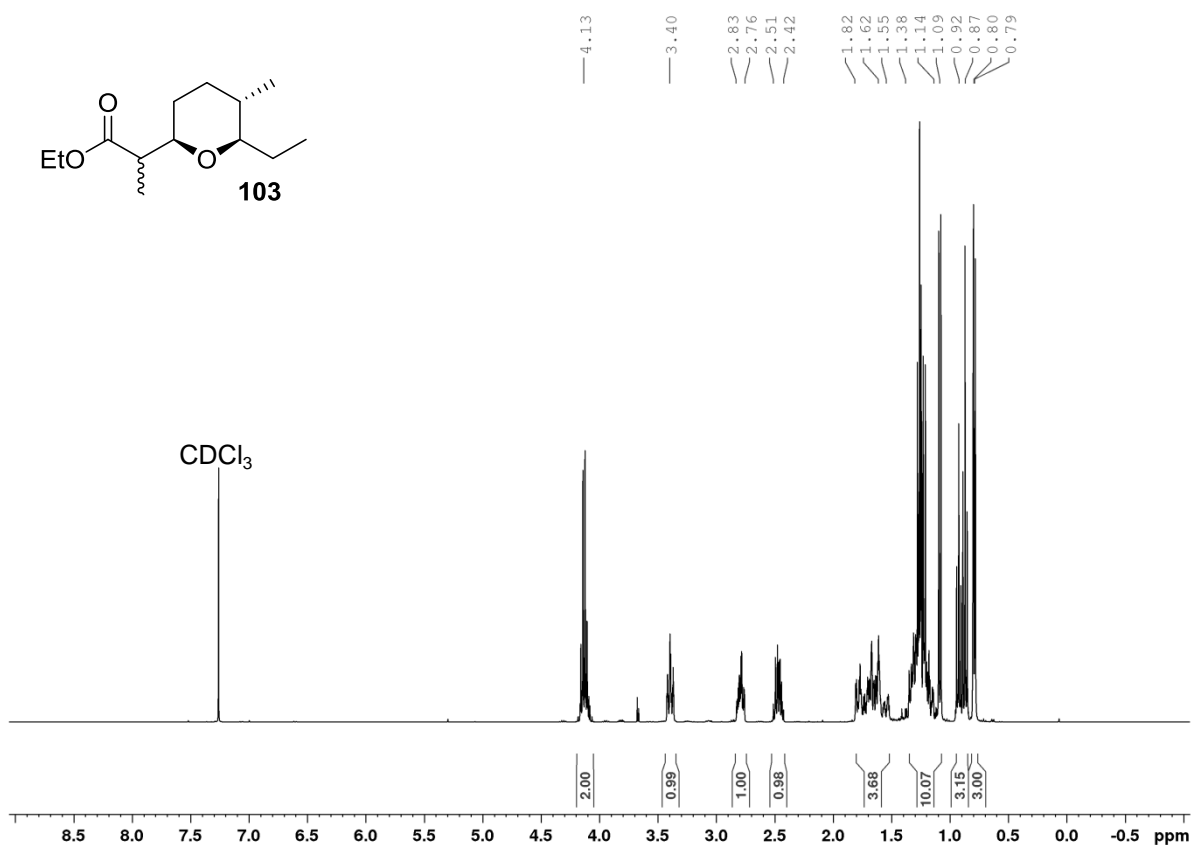
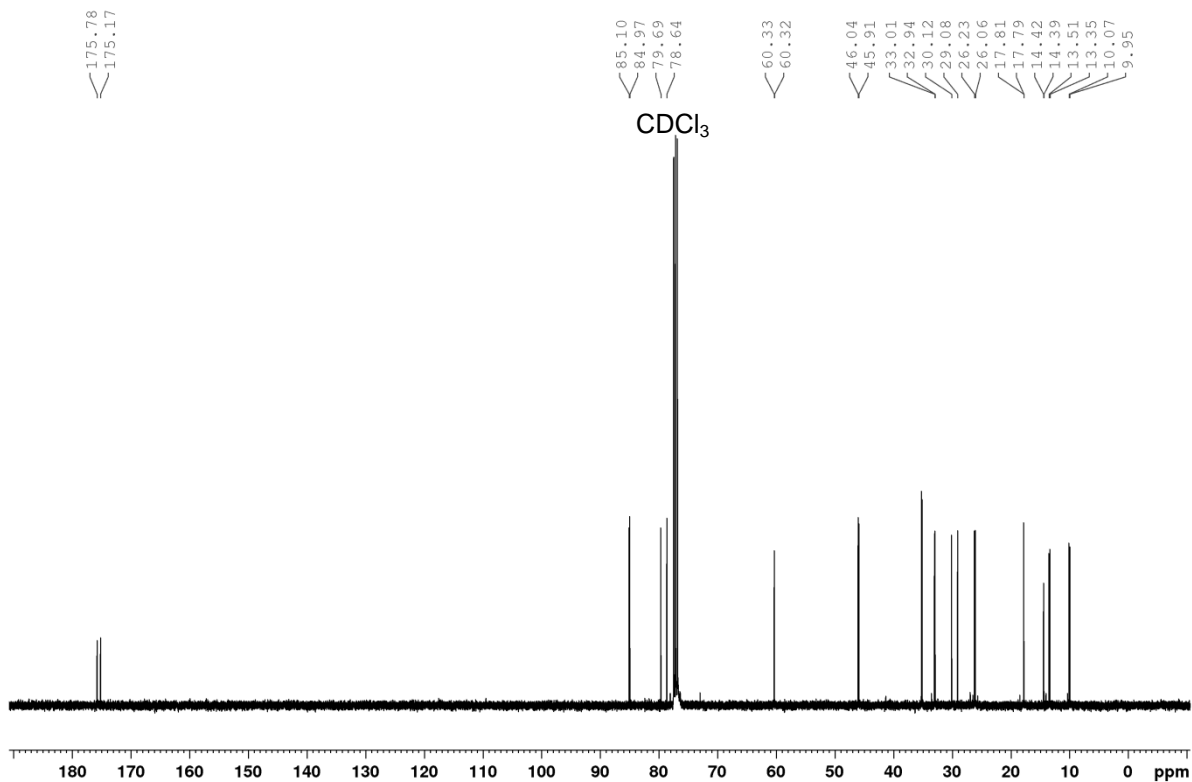
***tert*-Butyldimethyl(((3*R*,4*S*)-4-methyloct-7-en-3-yl)oxy)silan (105)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

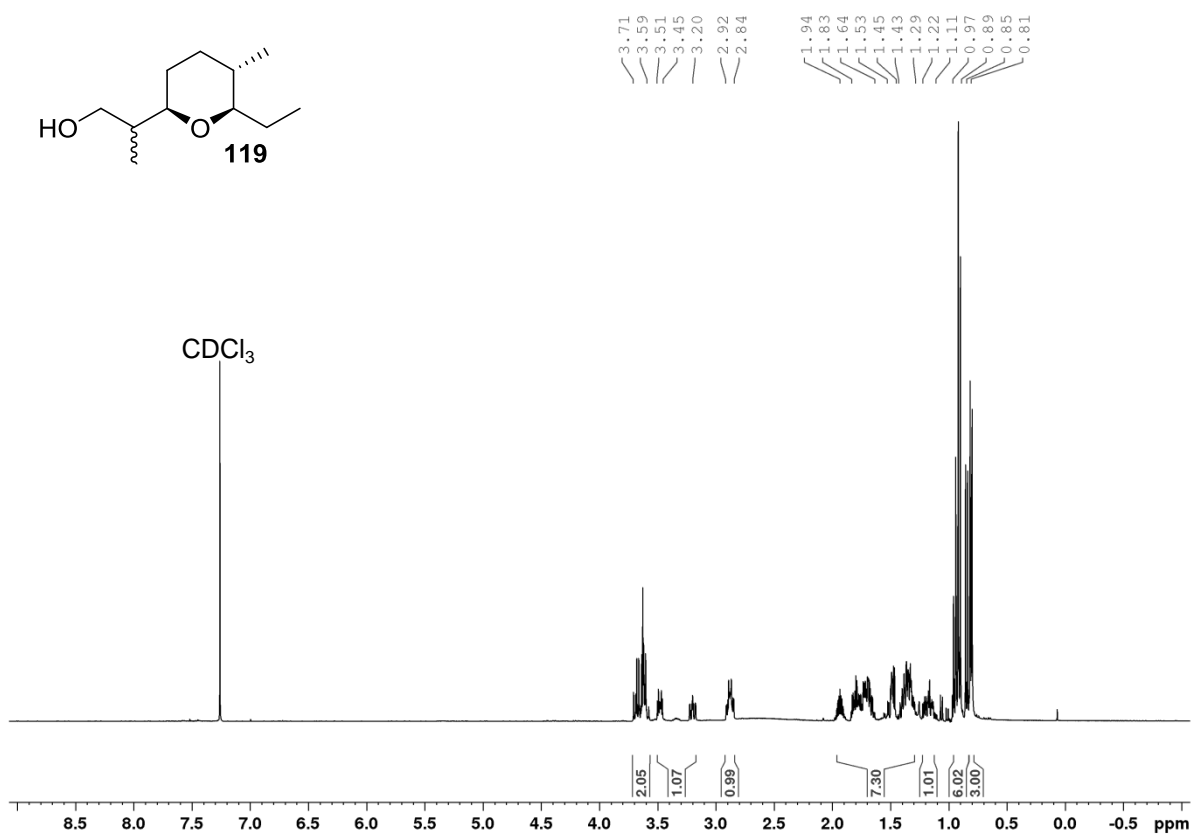
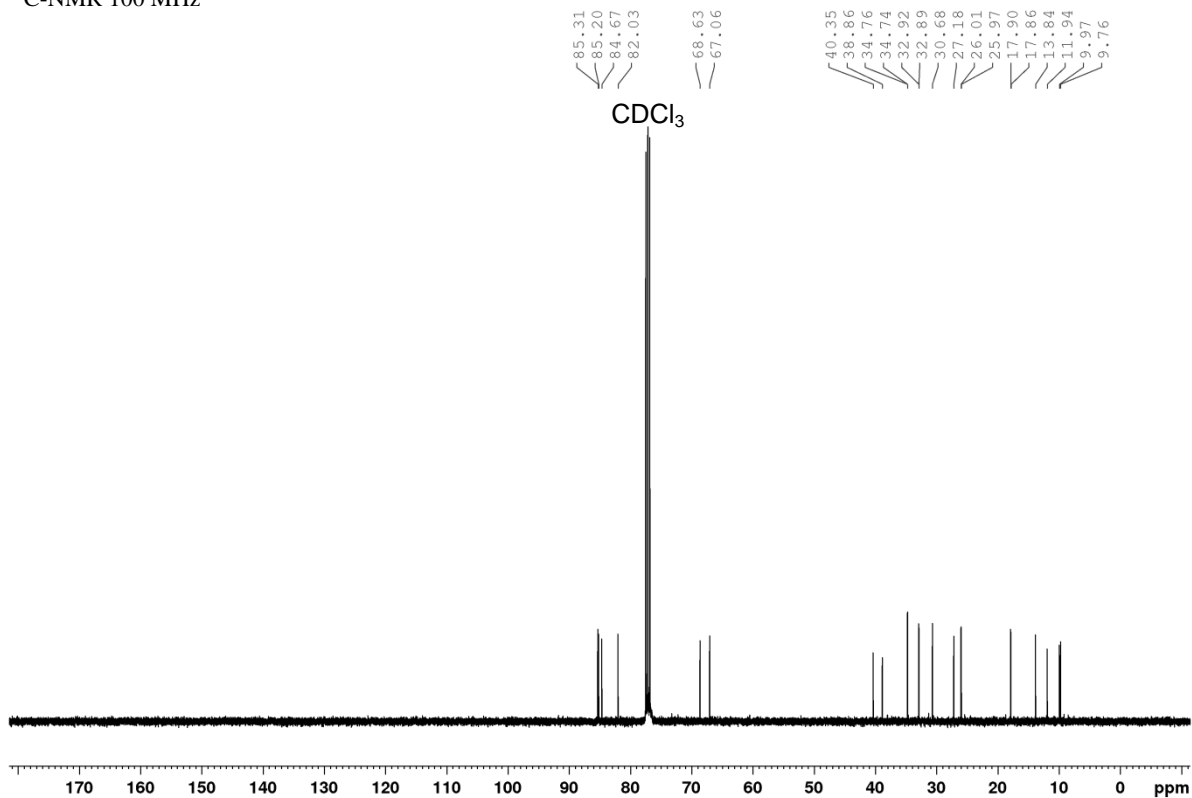
**(4*S*,5*R*)-5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-4-methylheptanal (116)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz

**(6*S*,7*R*,*E*)-Ethyl-7-hydroxy-2,6-dimethylnon-2-enoat (118)**<sup>1</sup>H-NMR 200 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

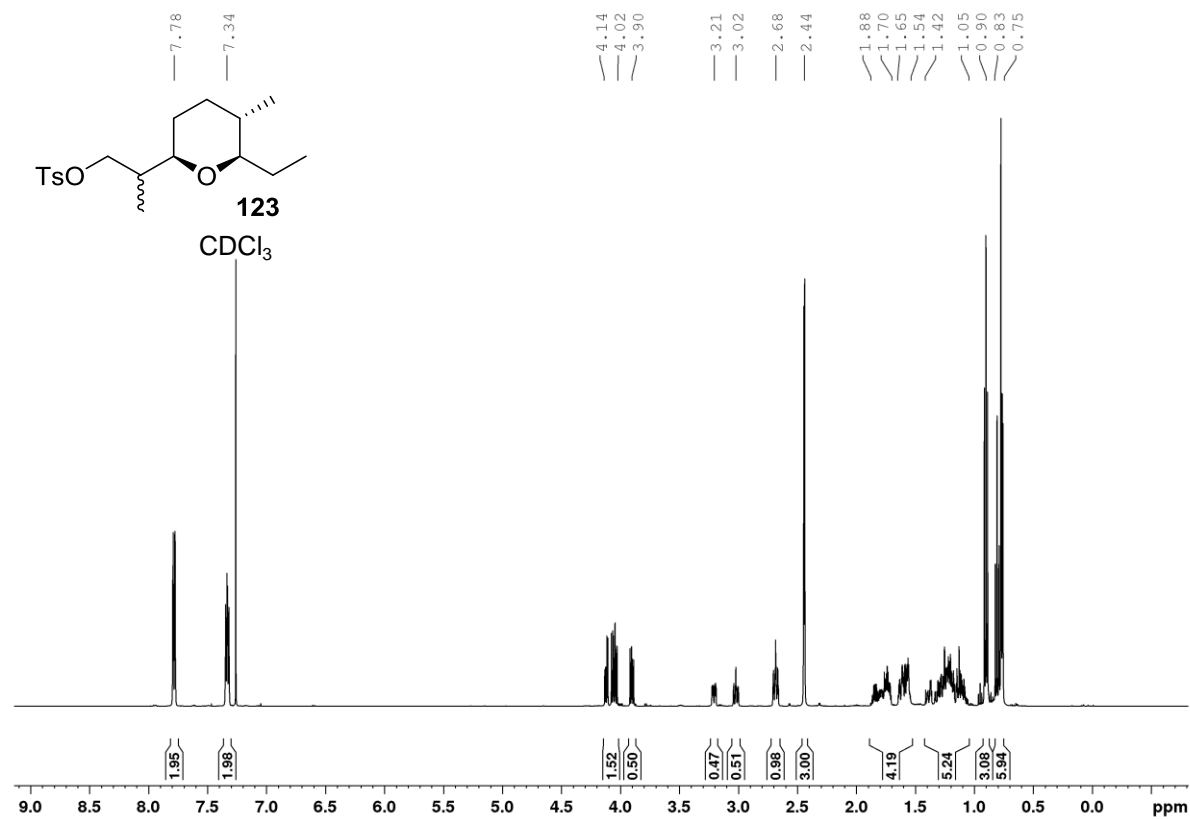


**Ethyl-2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-yl)-propanoate (103)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

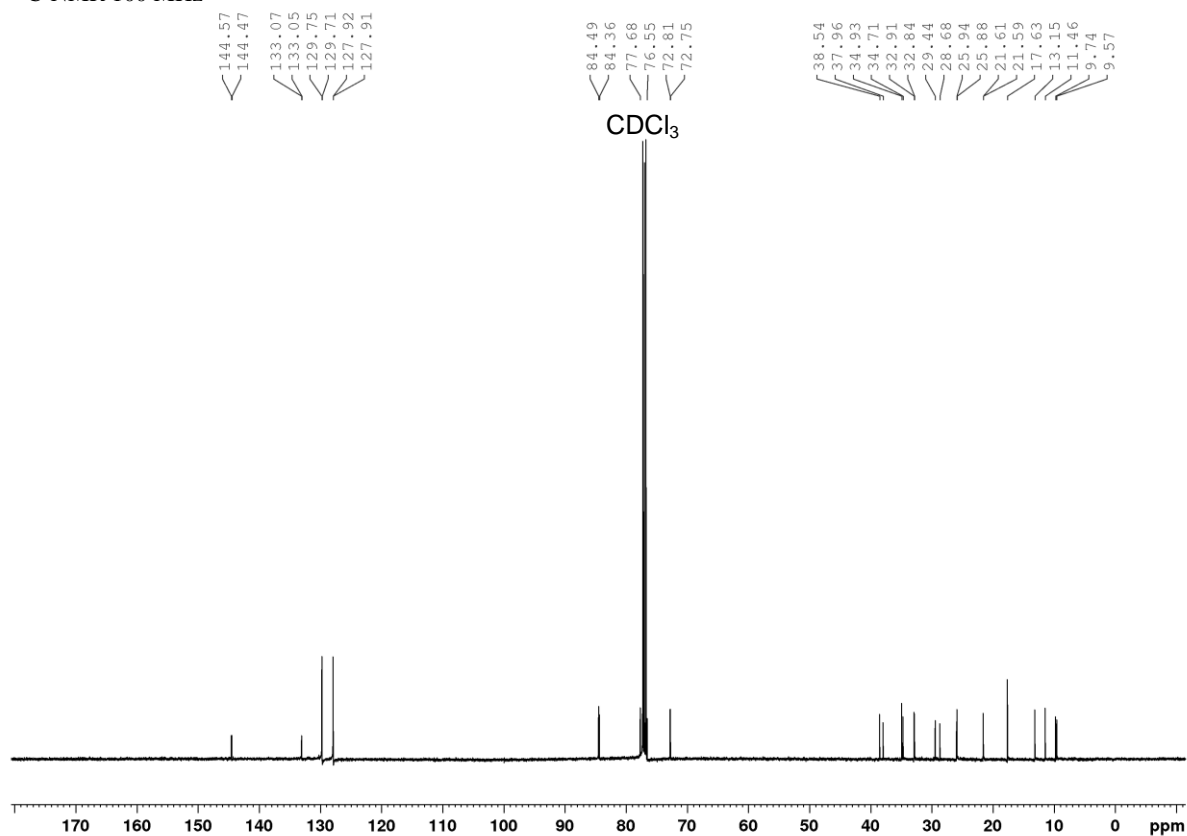
**2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-propanol (119)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

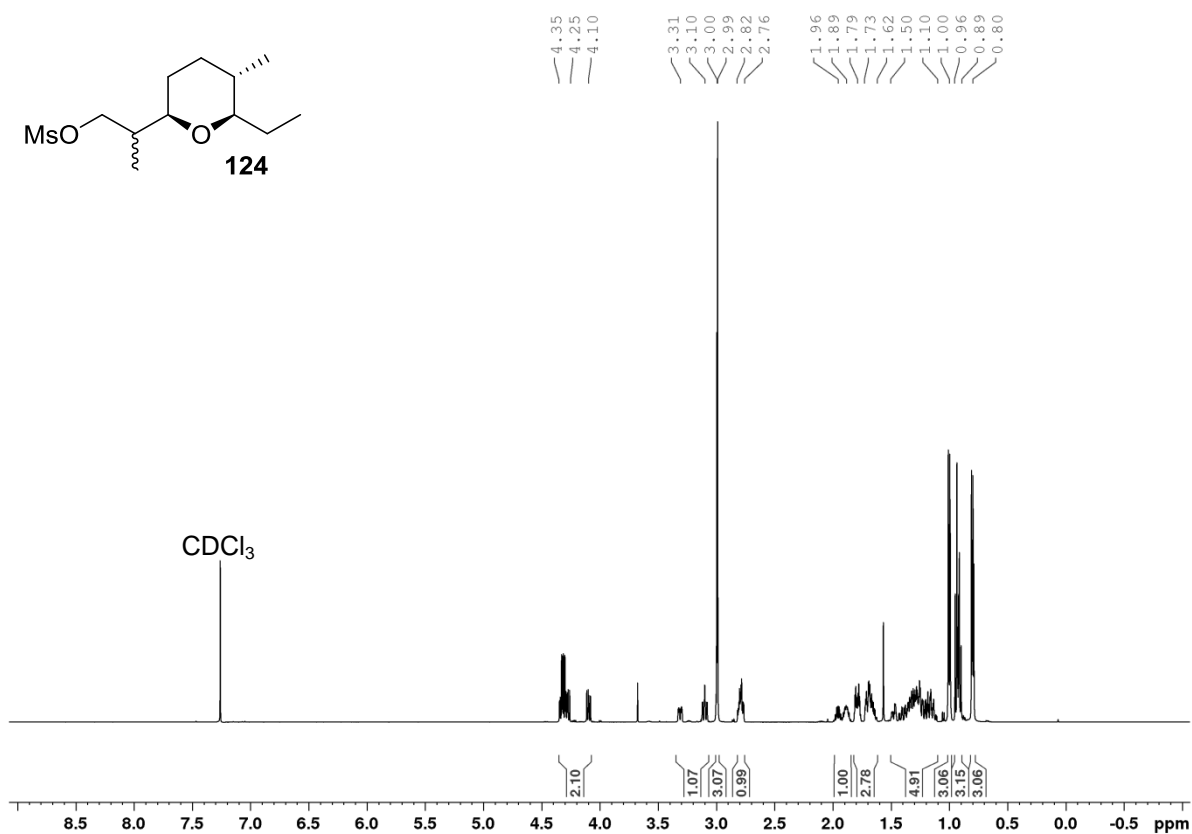
**2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-propyl-4-methylbenzolsulfonat (123)**

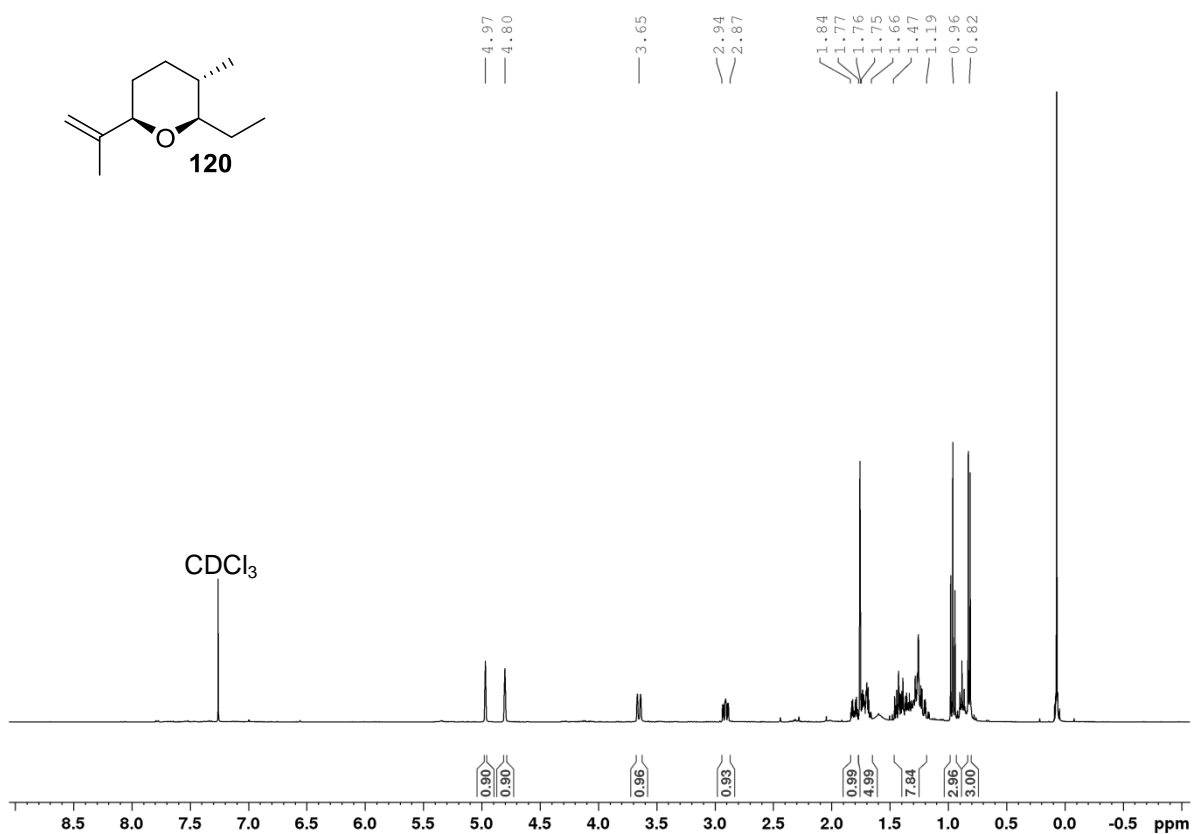
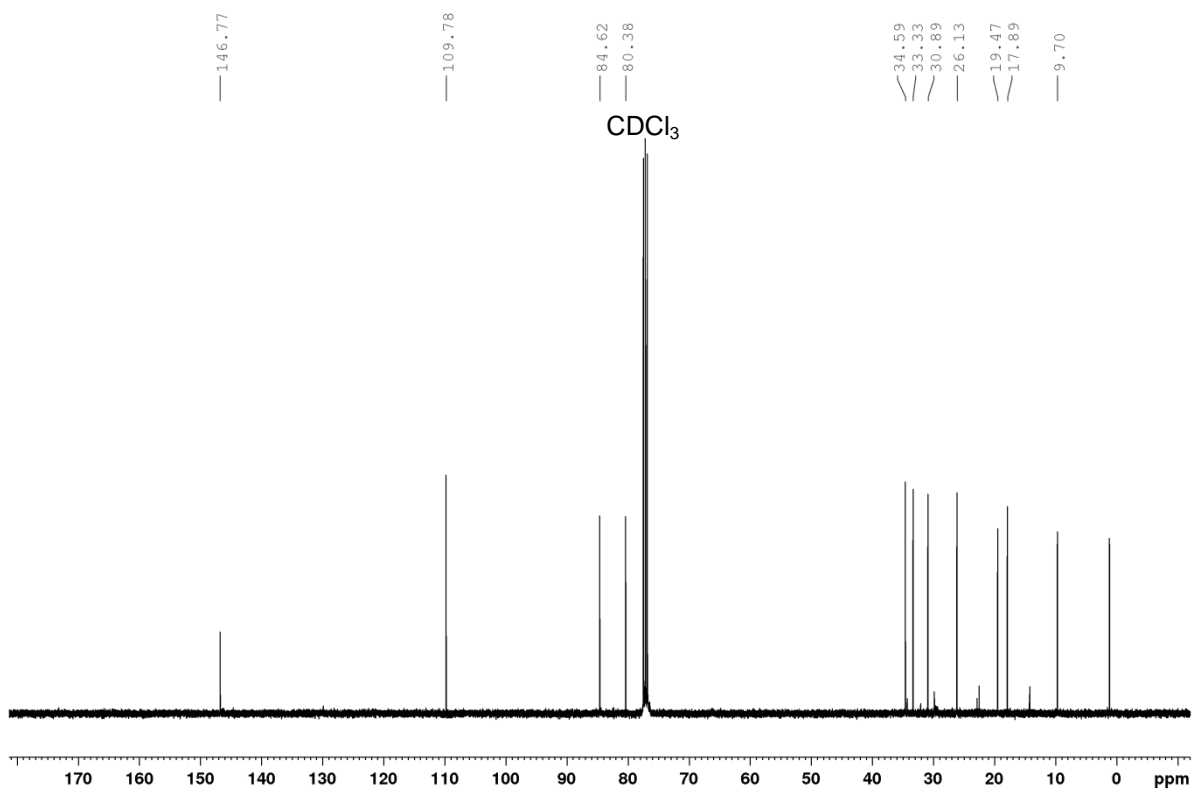
<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz

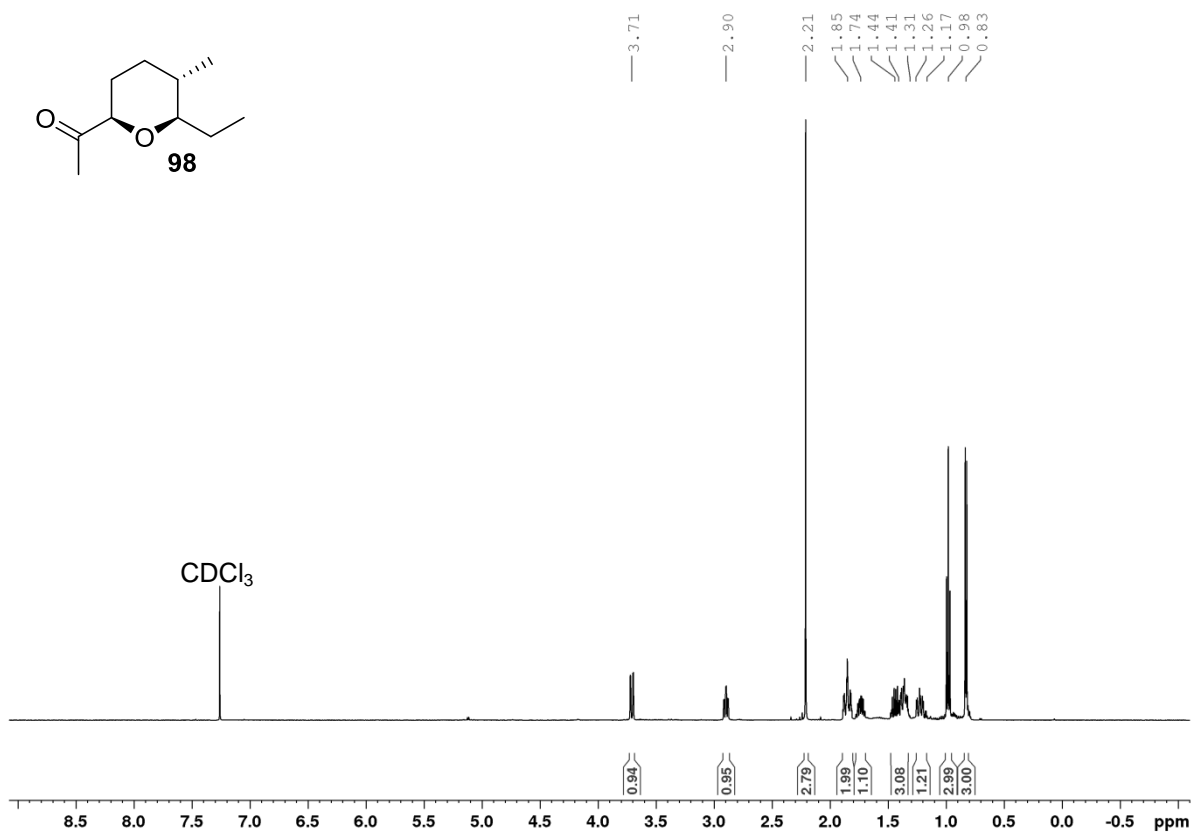
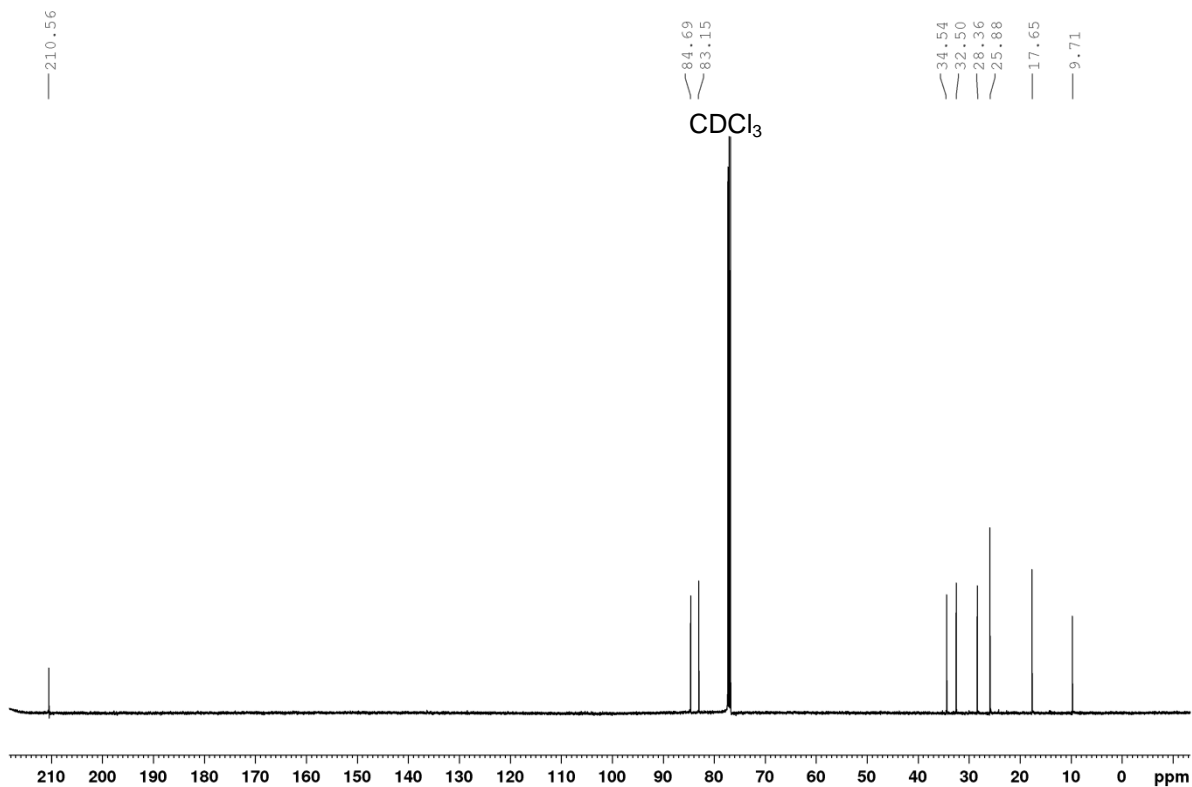


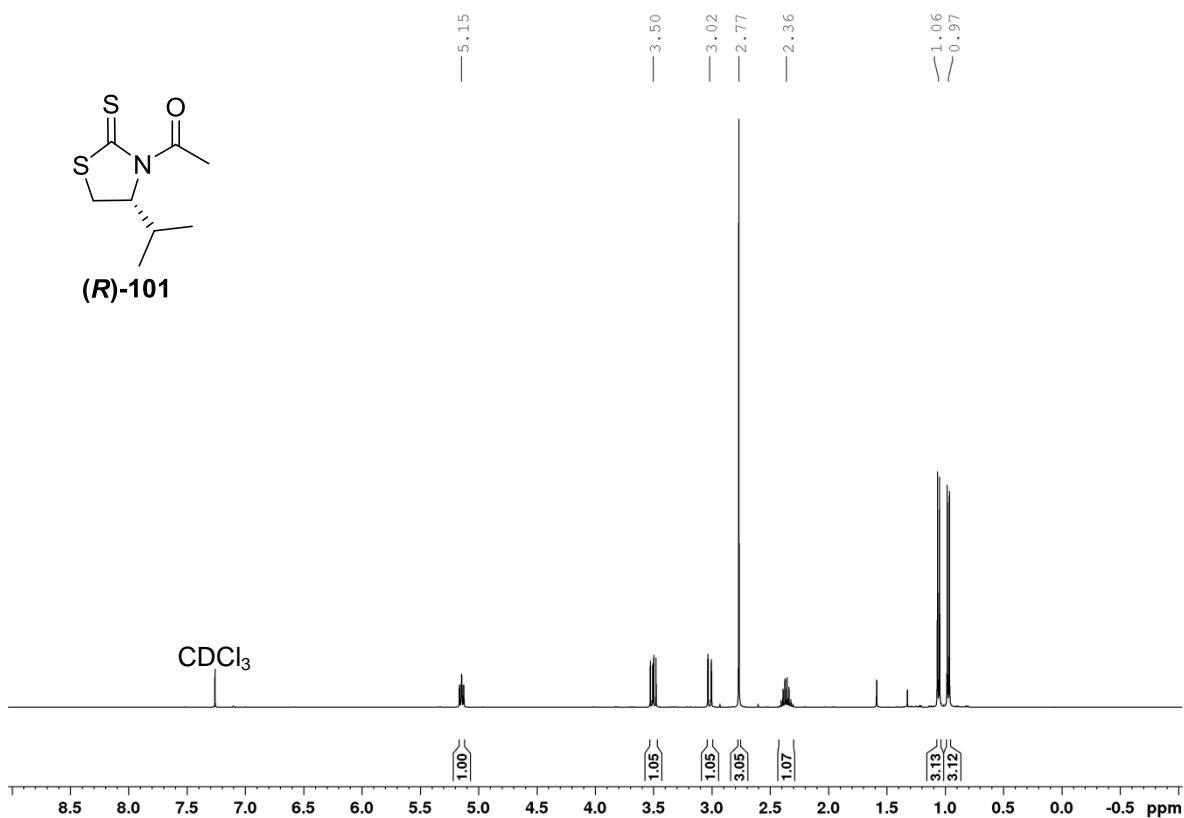
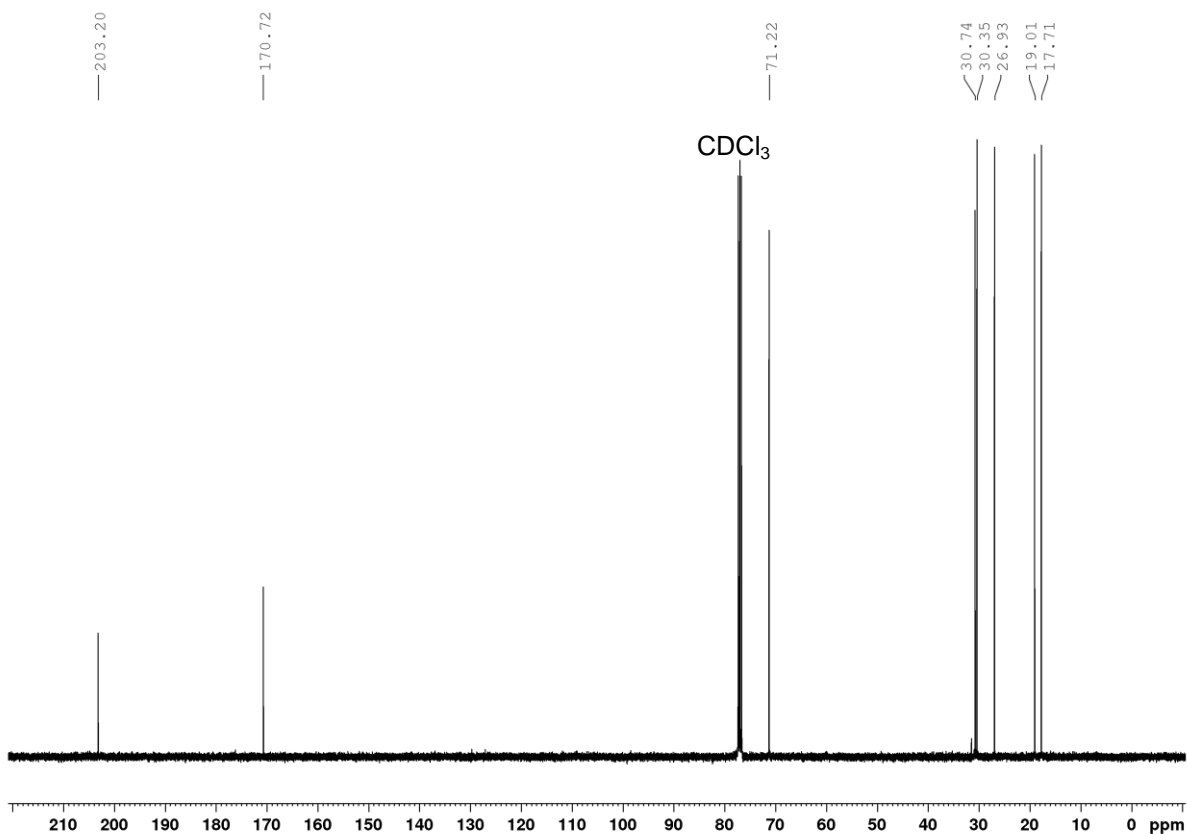
<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

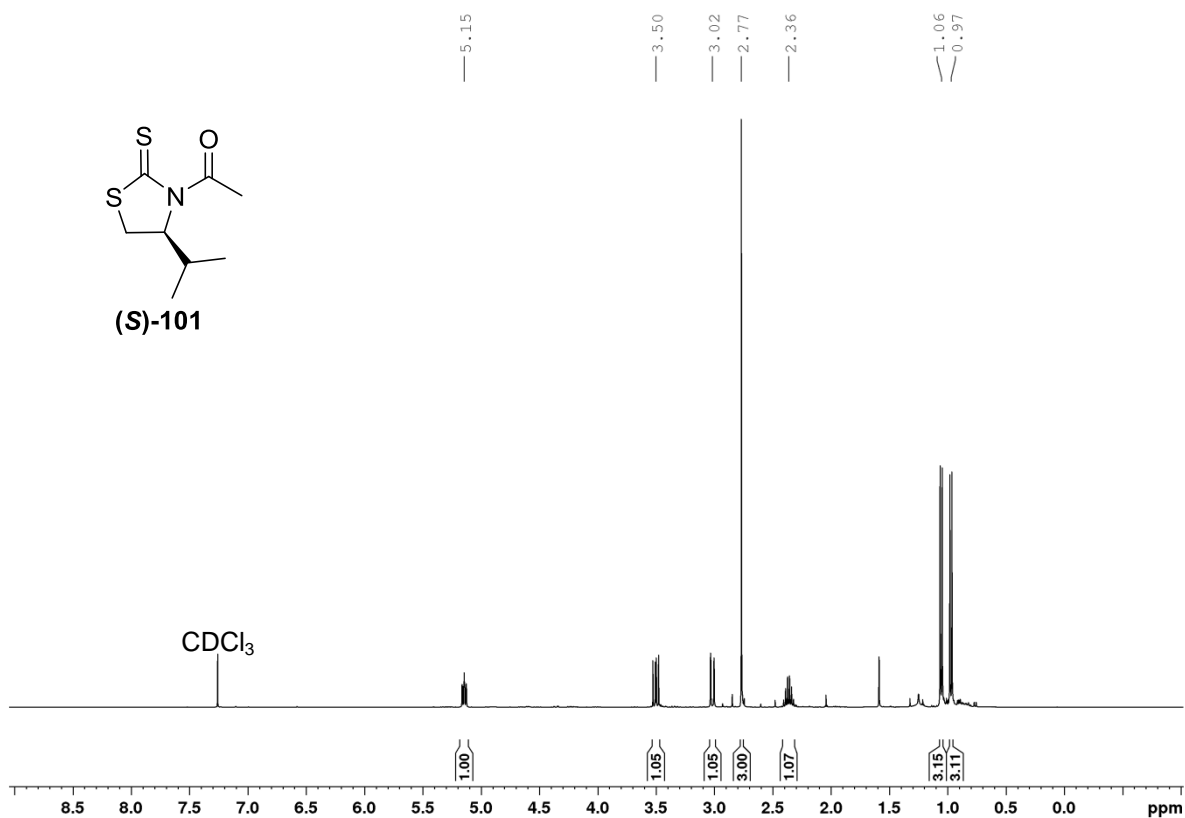
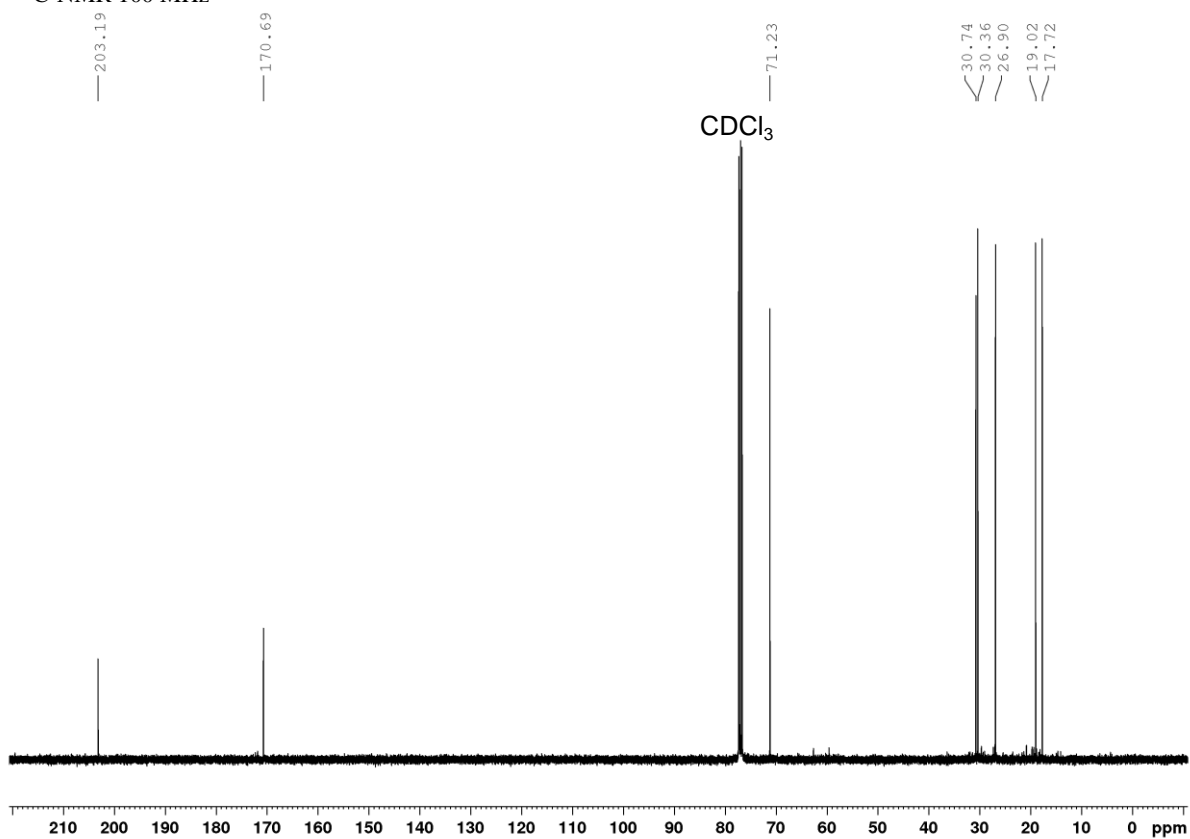


**2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-propylmethansulfonat (124)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

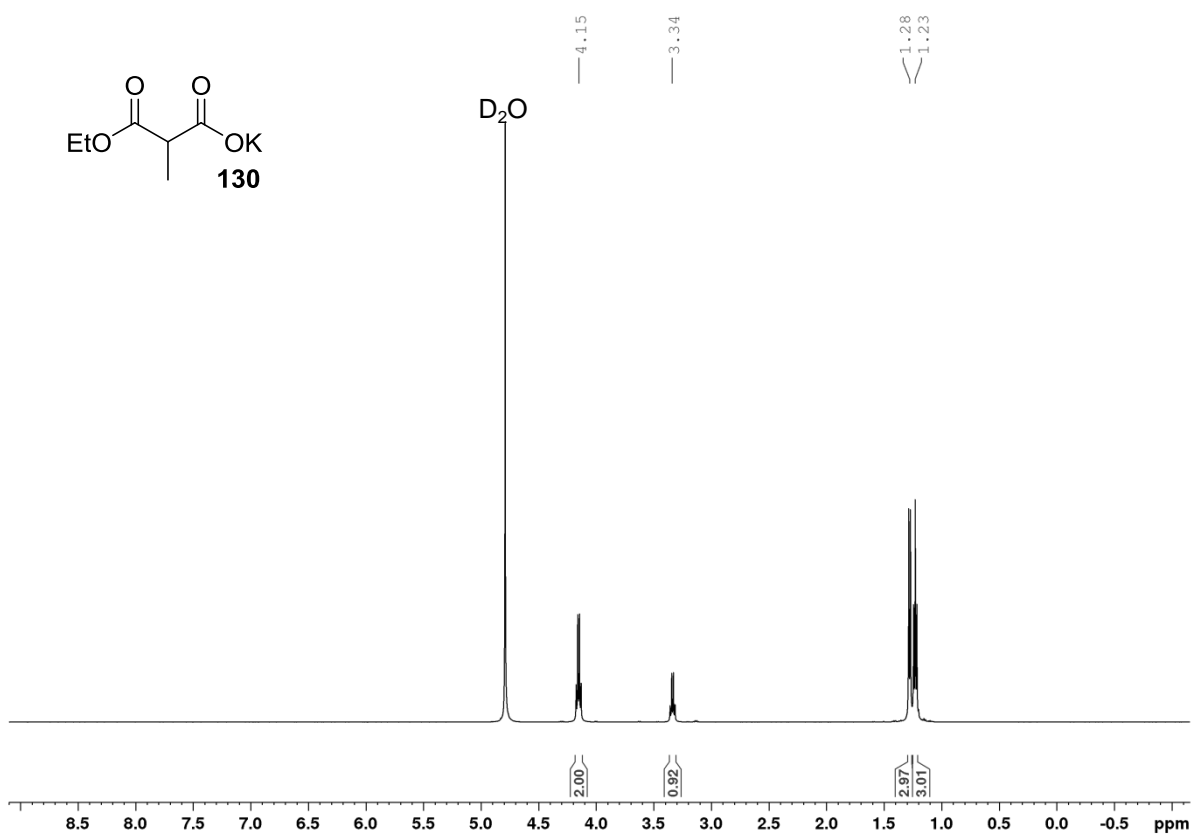
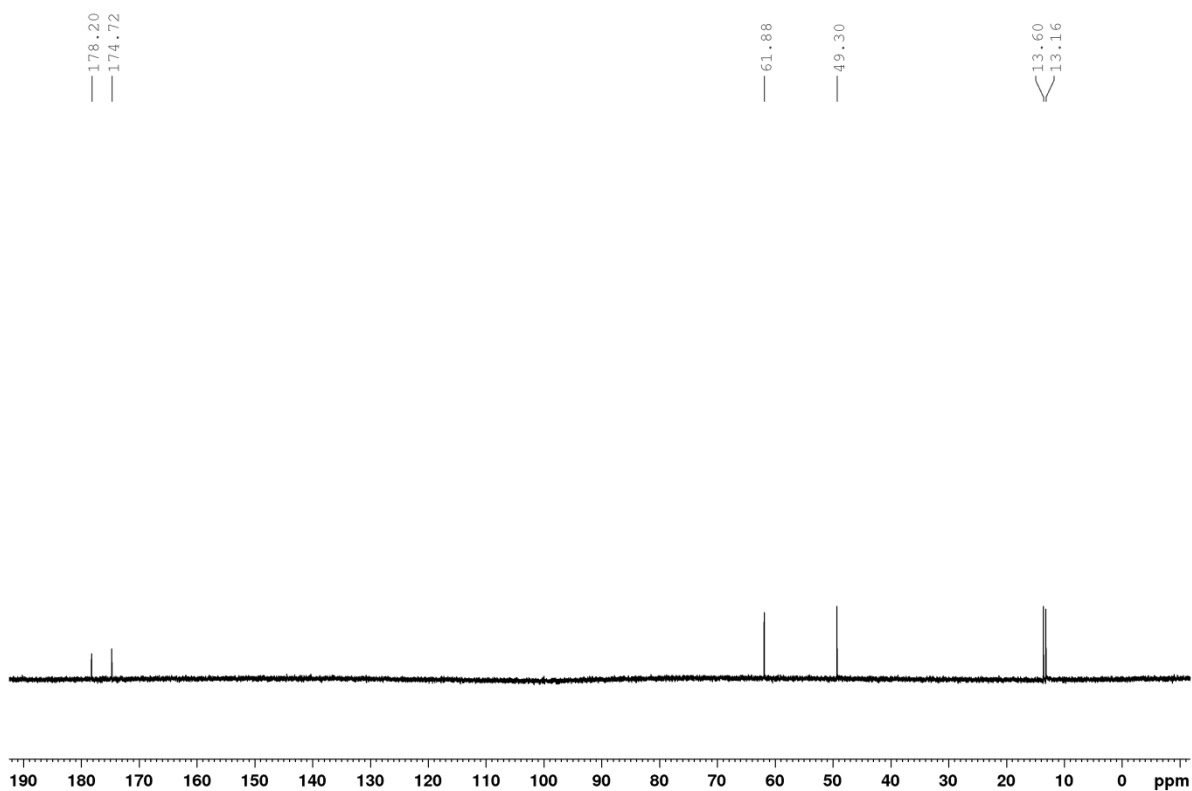
**(2*R*,3*S*,6*R*)-2-Ethyl-3-methyl-6-(prop-1-en-2-yl)tetrahydro-2*H*-pyran (120)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

**1-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)ethan-1-on (98)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(R)-1-(4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)ethan-1-on ((R)-101)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

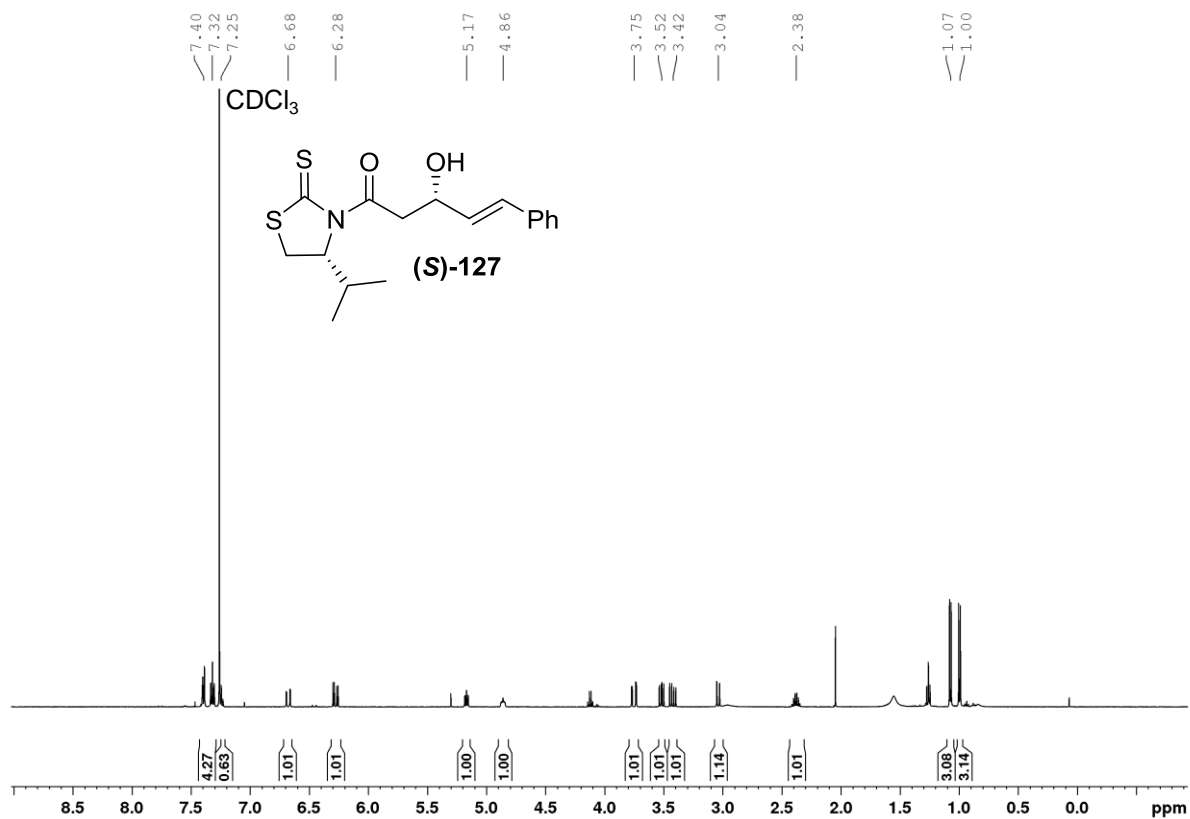
**(S)-1-(4-Isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)ethan-1-on ((S)-101)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz



**Kalium-3-ethoxy-2-methyl-3-oxopropanoat (130)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

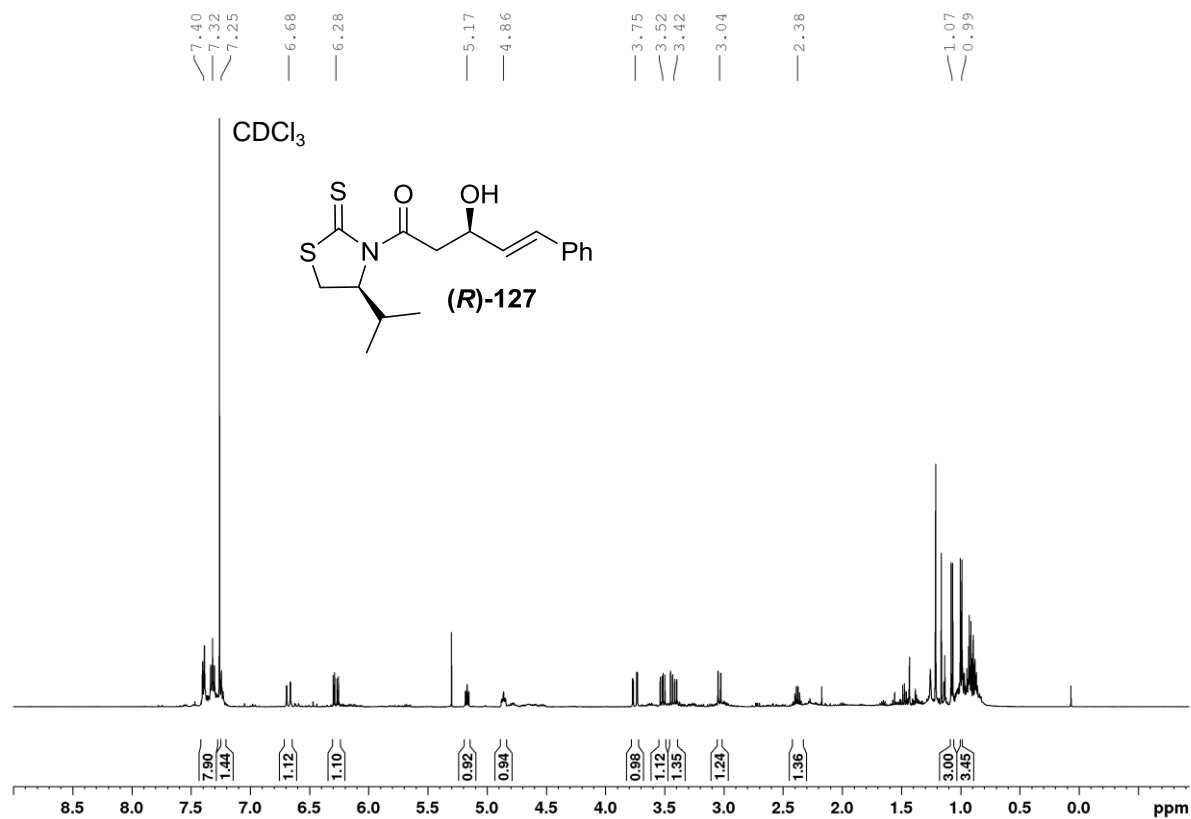
**(*S,E*)-3-Hydroxy-1-((*R*)-4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)-5-phenylpent-4-en-1-on ((*S*)-127)**

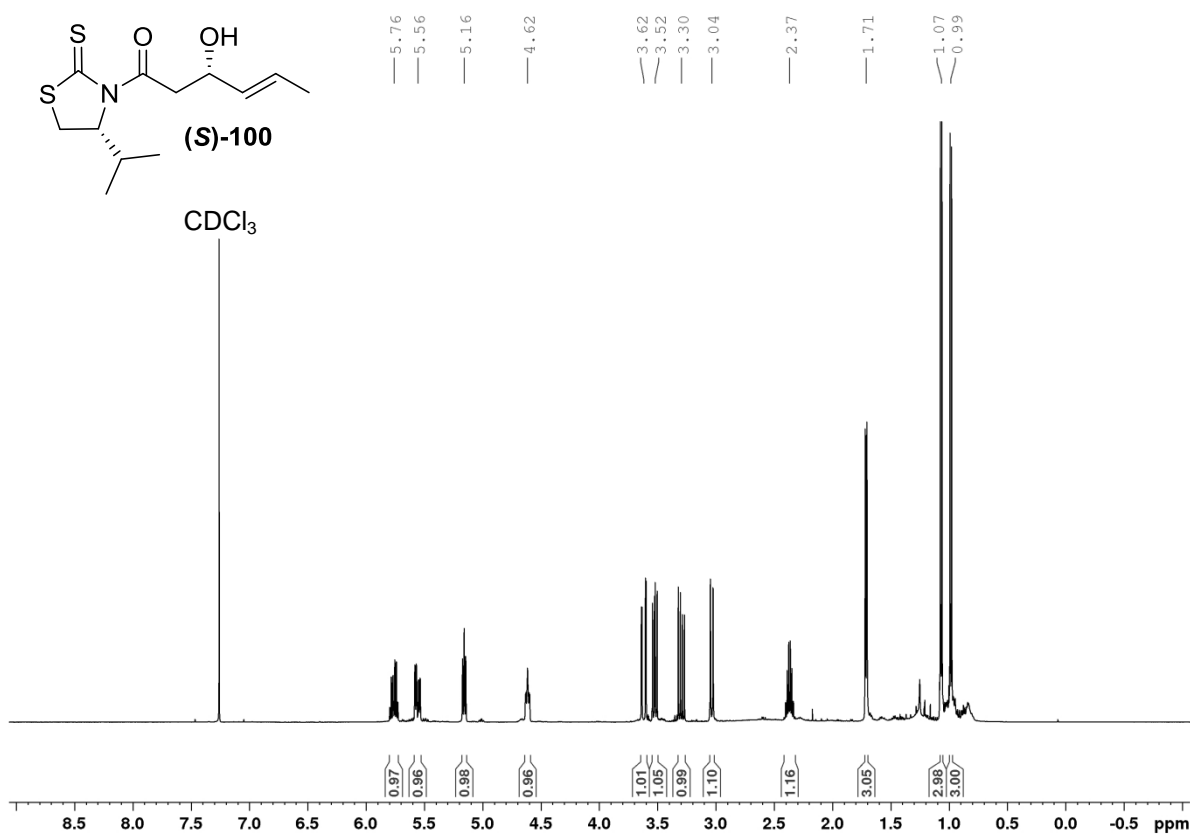
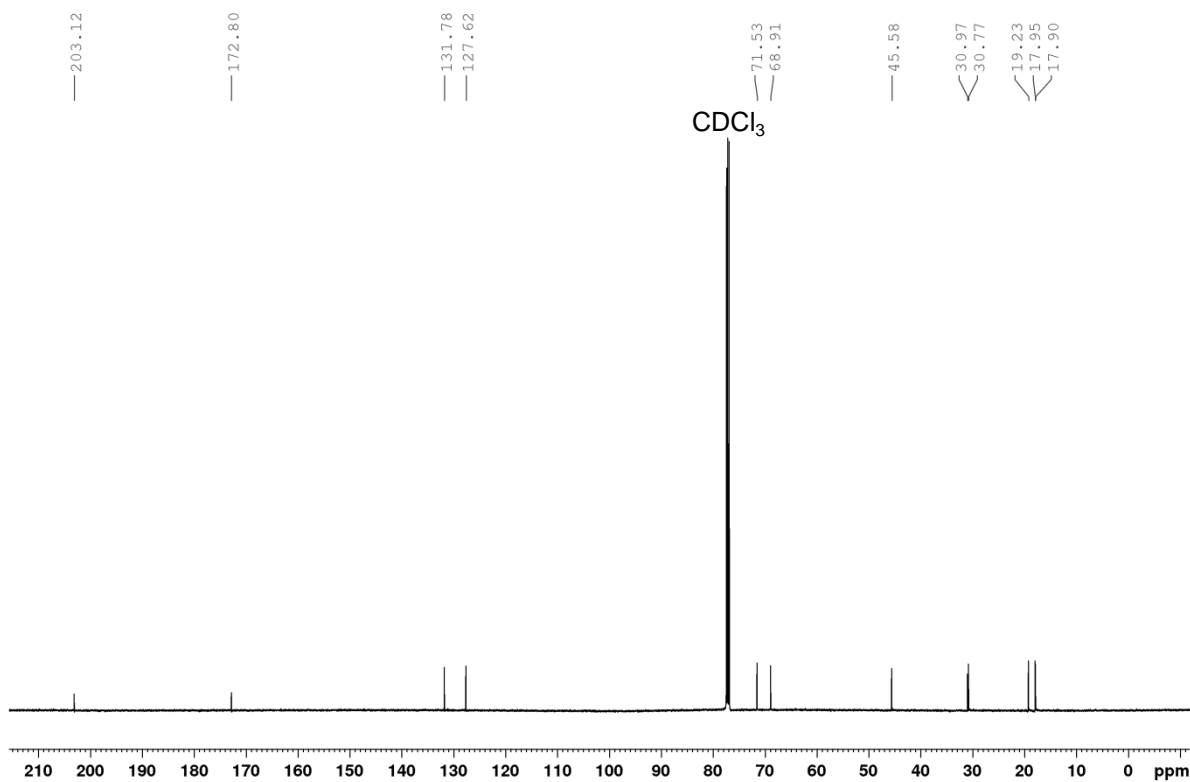
<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

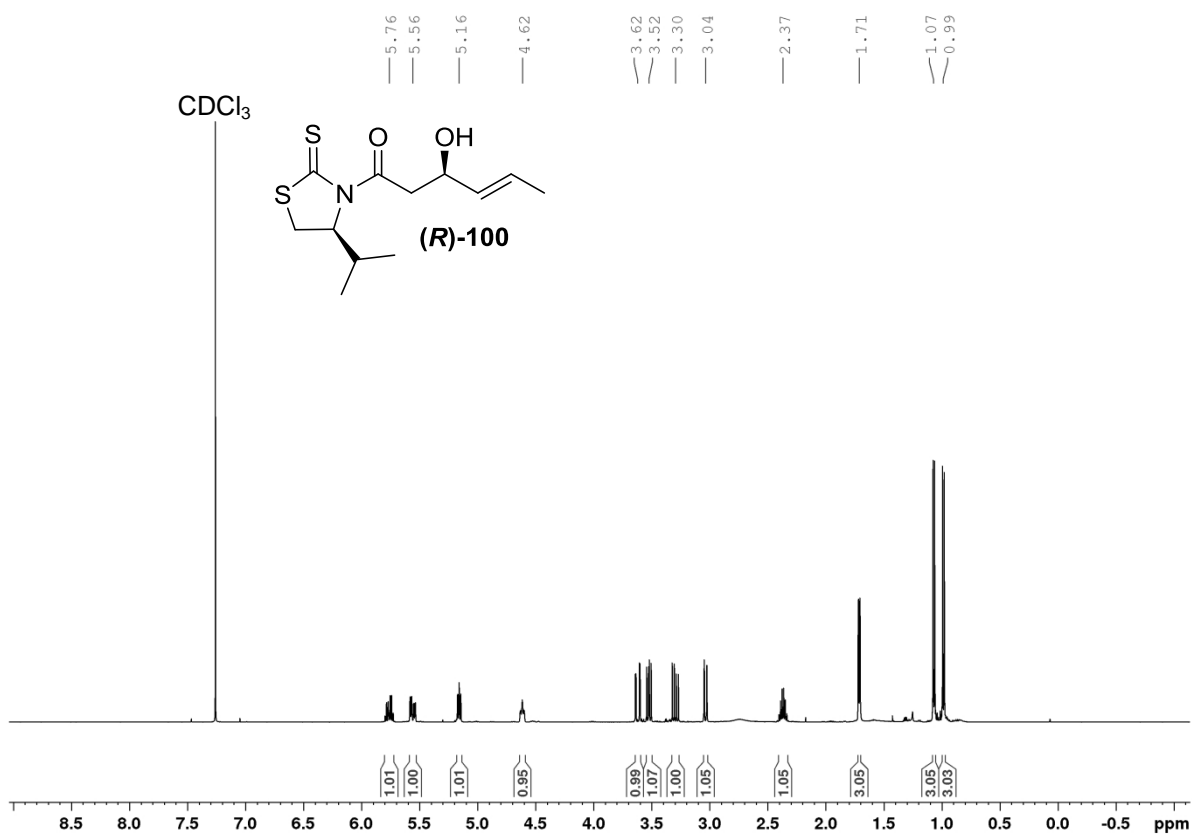
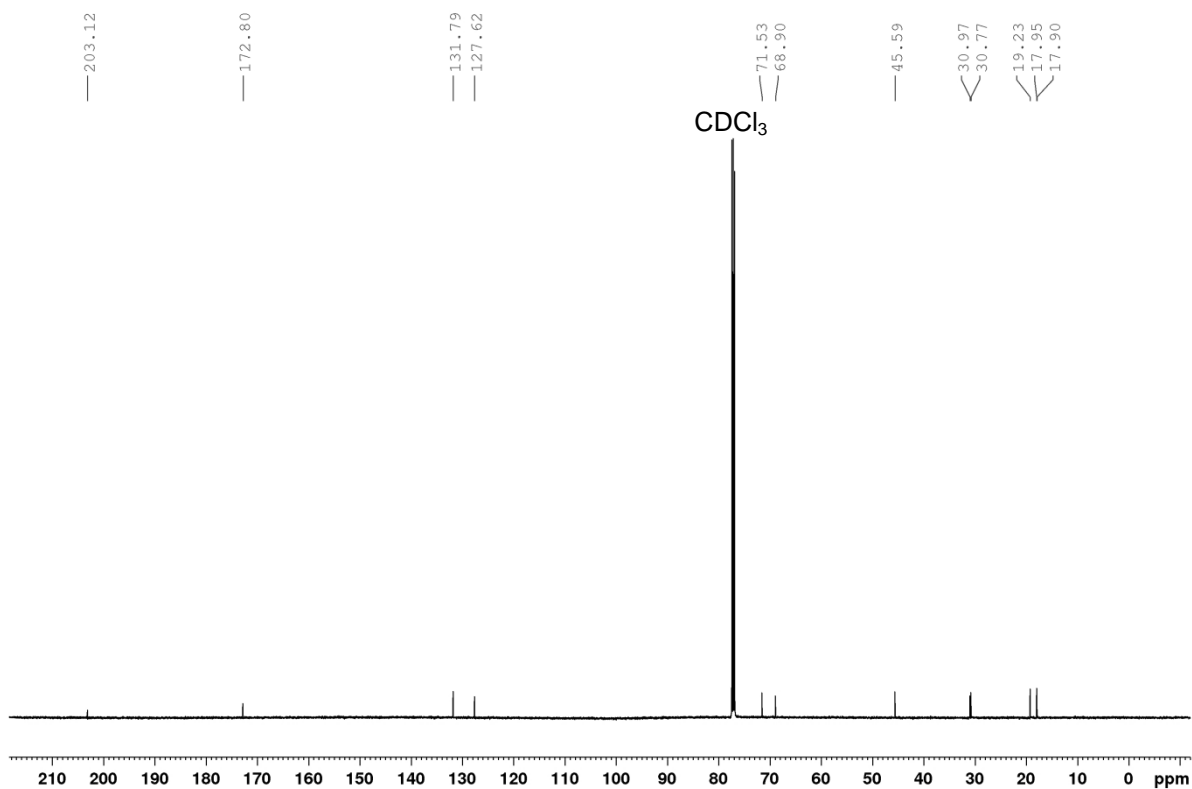


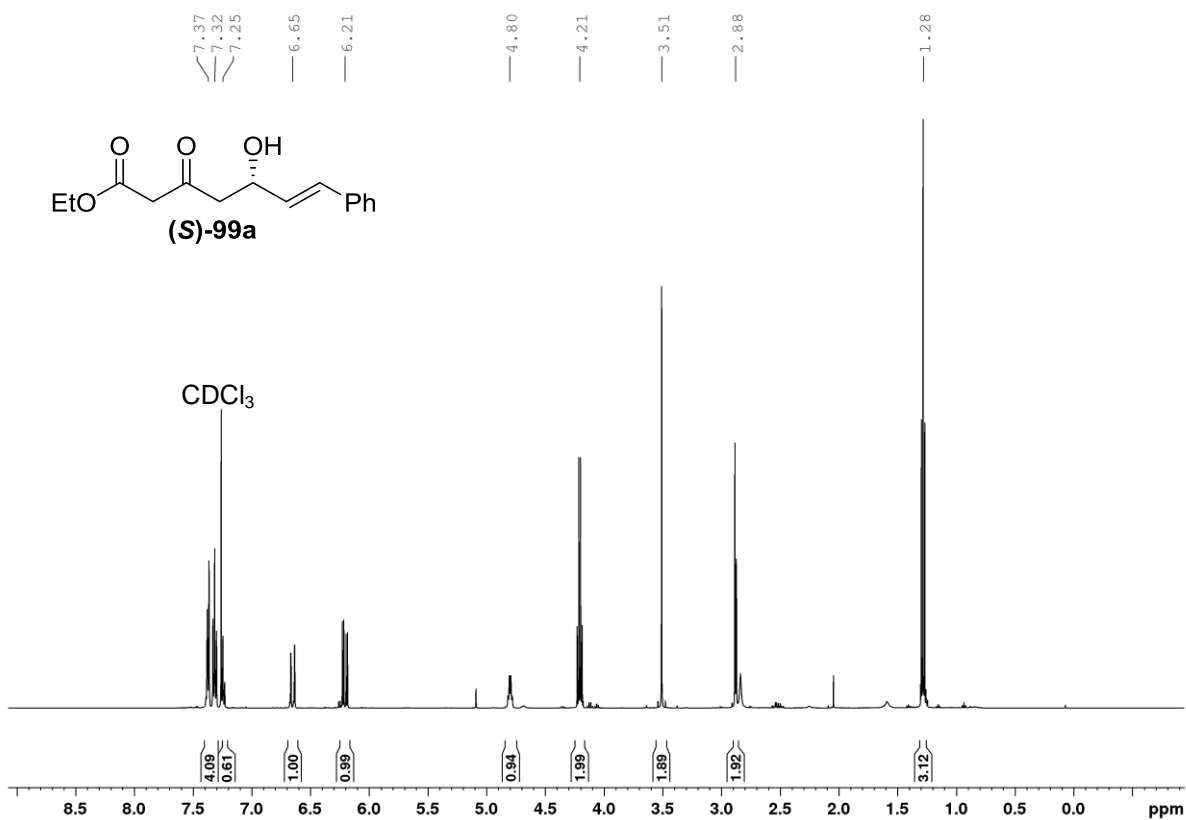
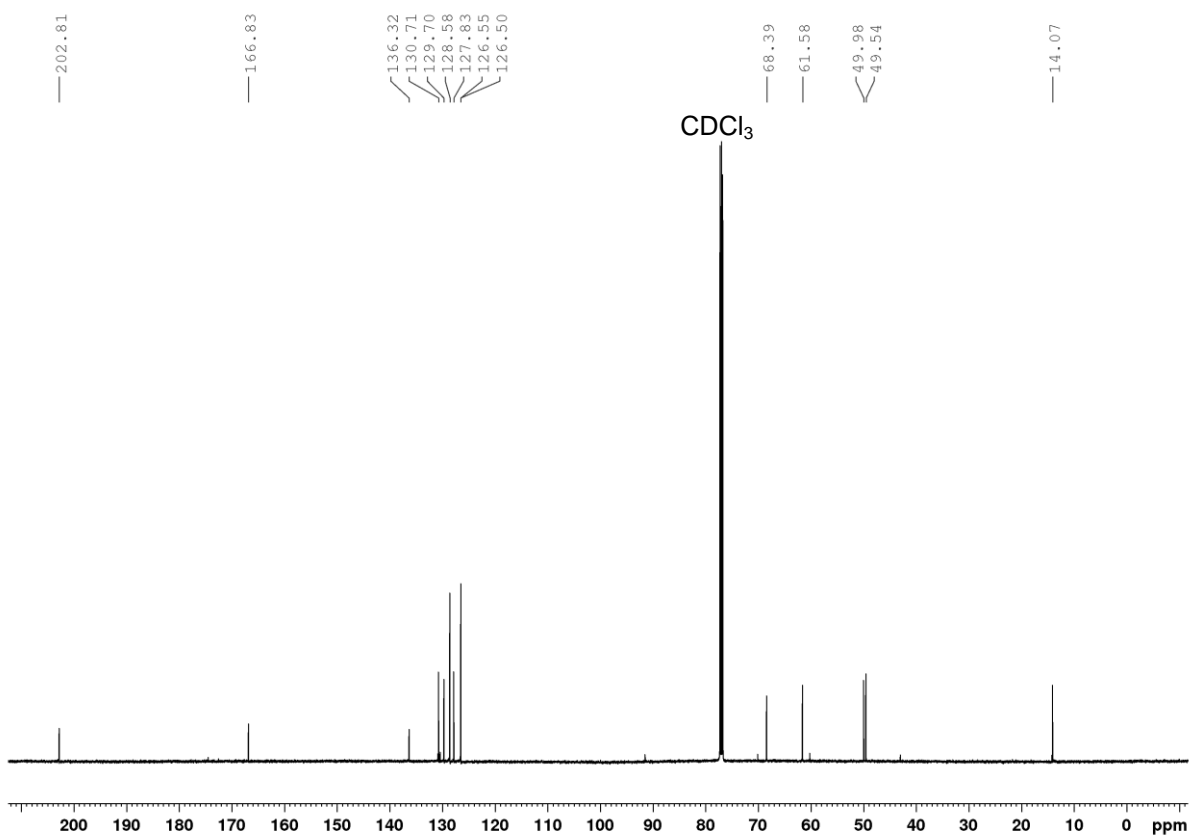
**(*R,E*)-3-hydroxy-1-((*S*)-4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)-5-phenylpent-4-en-1-on ((*R*)-127)**

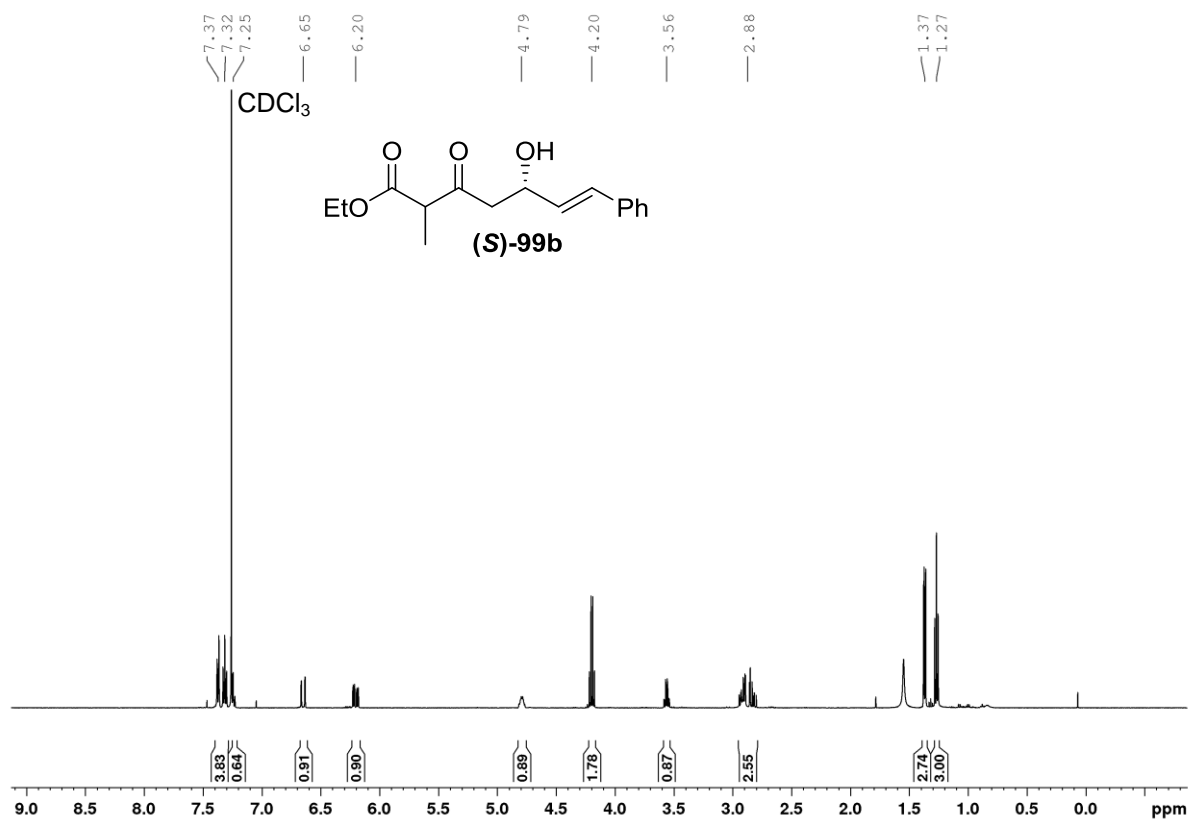
<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

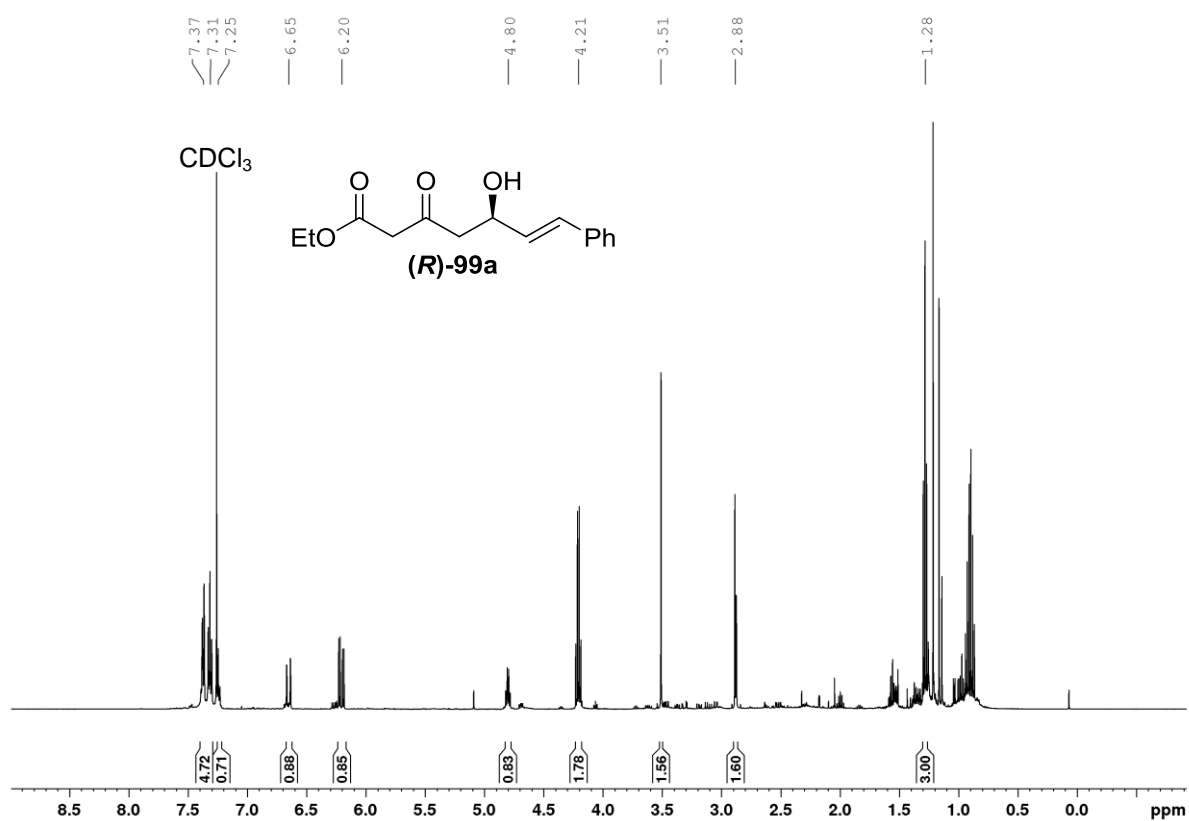


**(*S,E*)-3-hydroxy-1-((*R*)-4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)hex-4-en-1-on ((*S*)-100)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

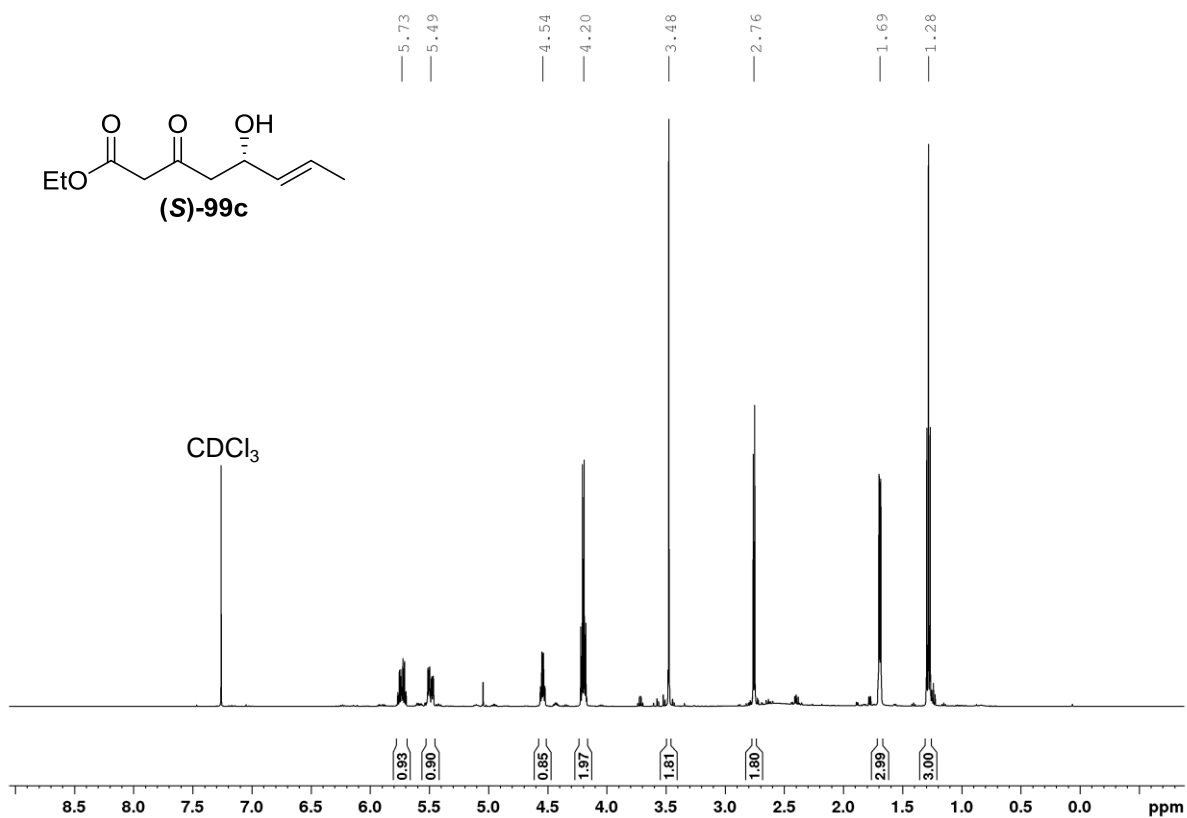
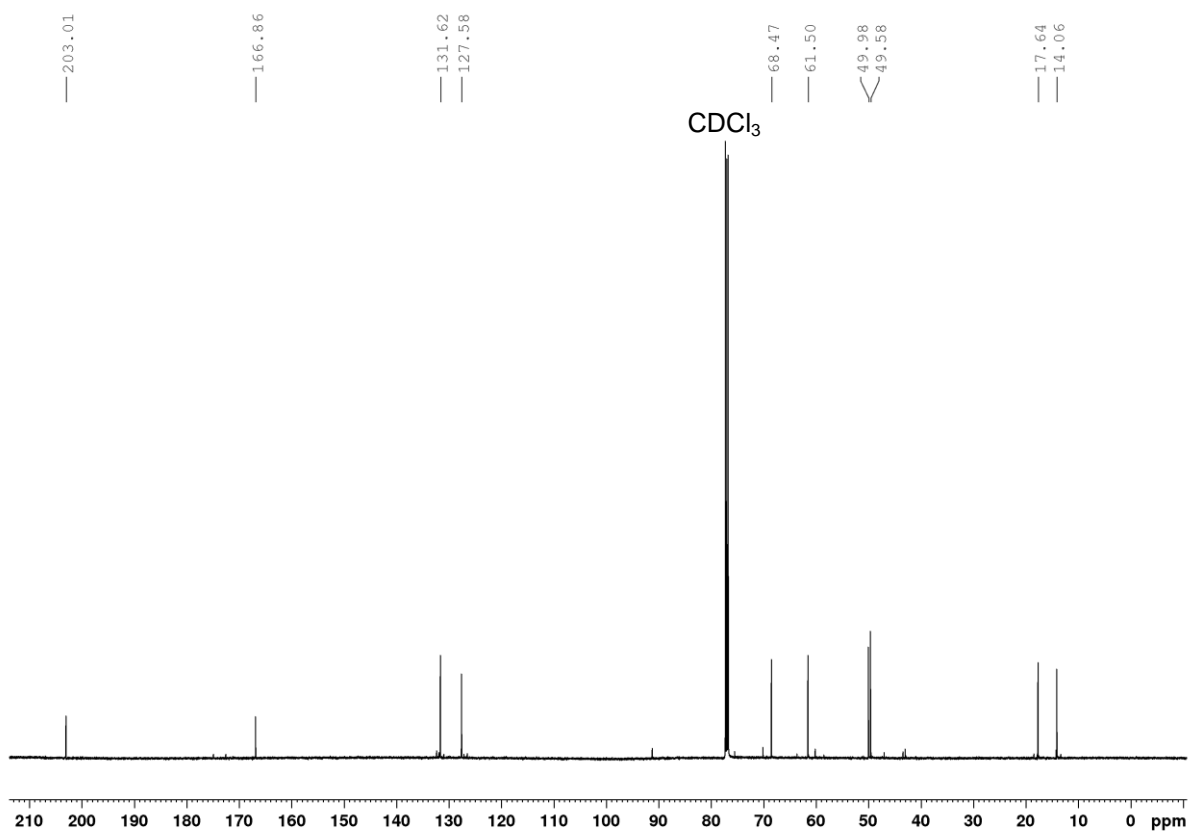
**(*R,E*)-3-Hydroxy-1-((*R*)-4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)hex-4-en-1-on ((*R*)-100)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

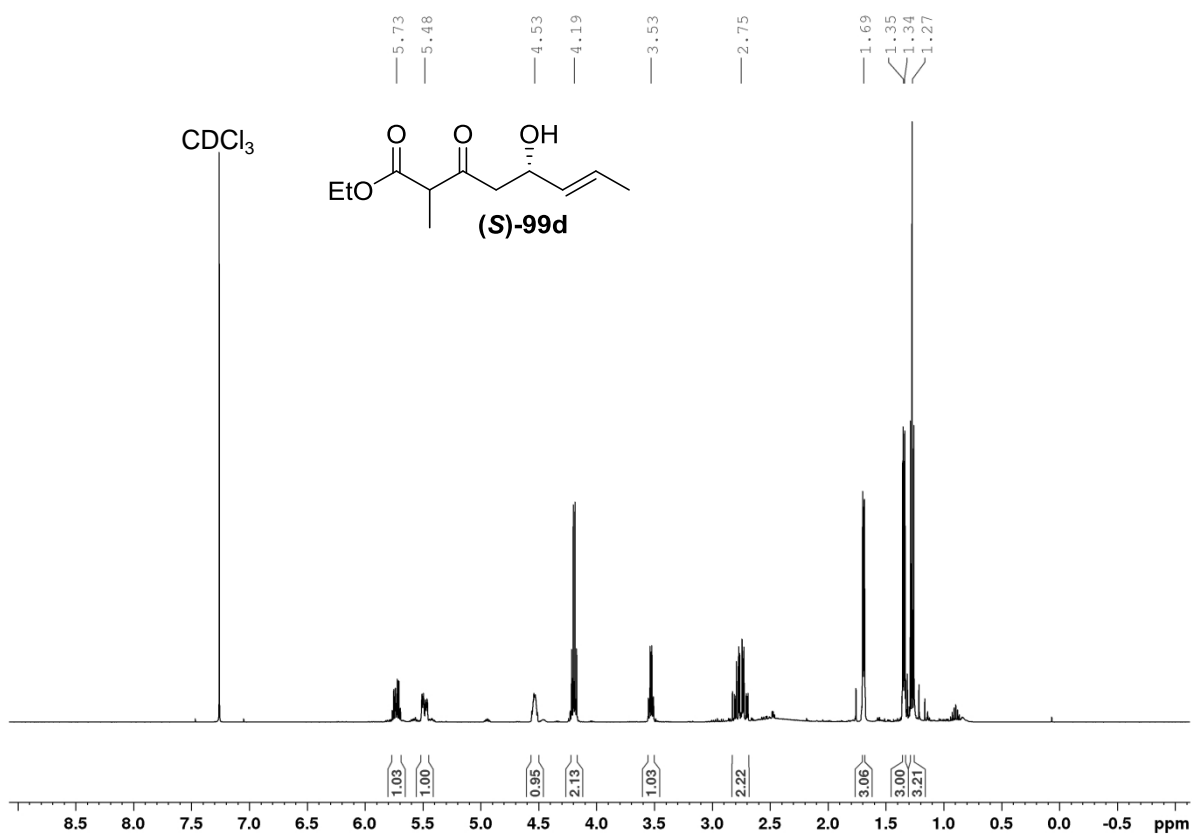
**Ethyl-(*S,E*)-5-hydroxy-3-oxo-7-phenylhept-6-enoat ((*S*)-99a)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

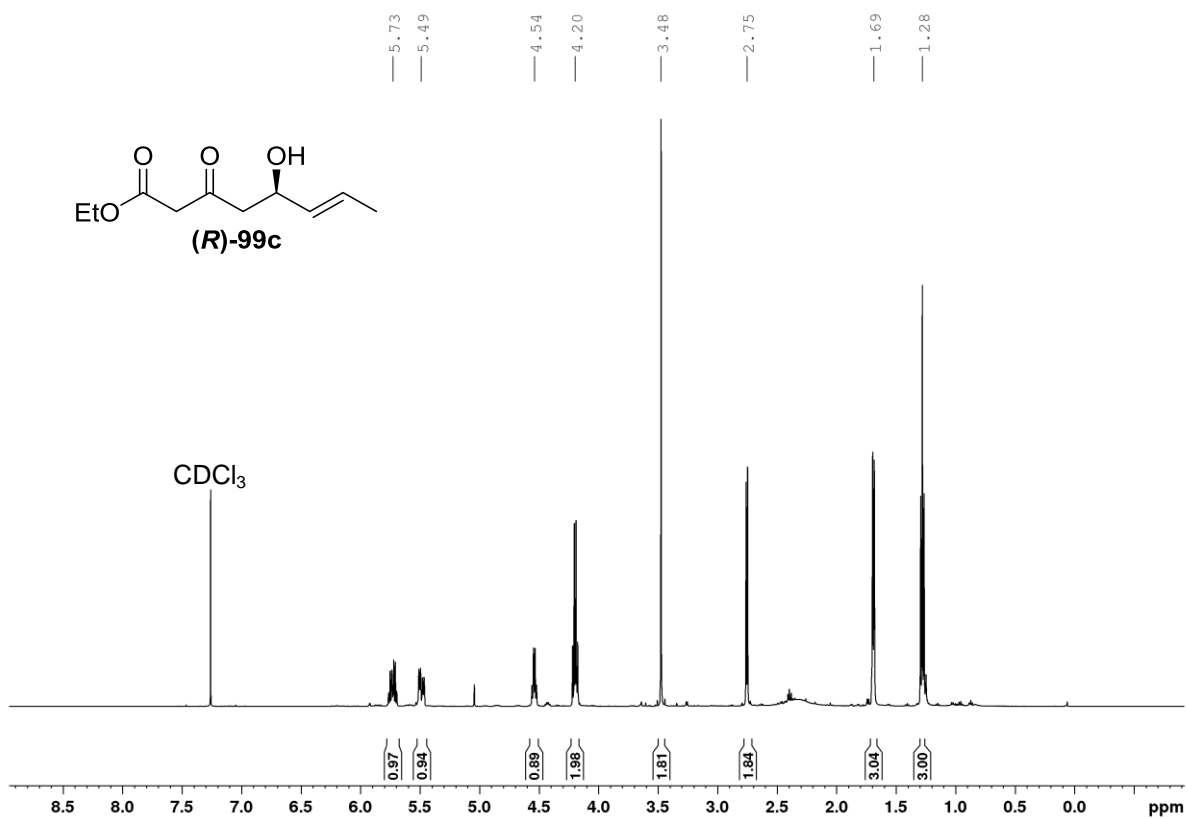
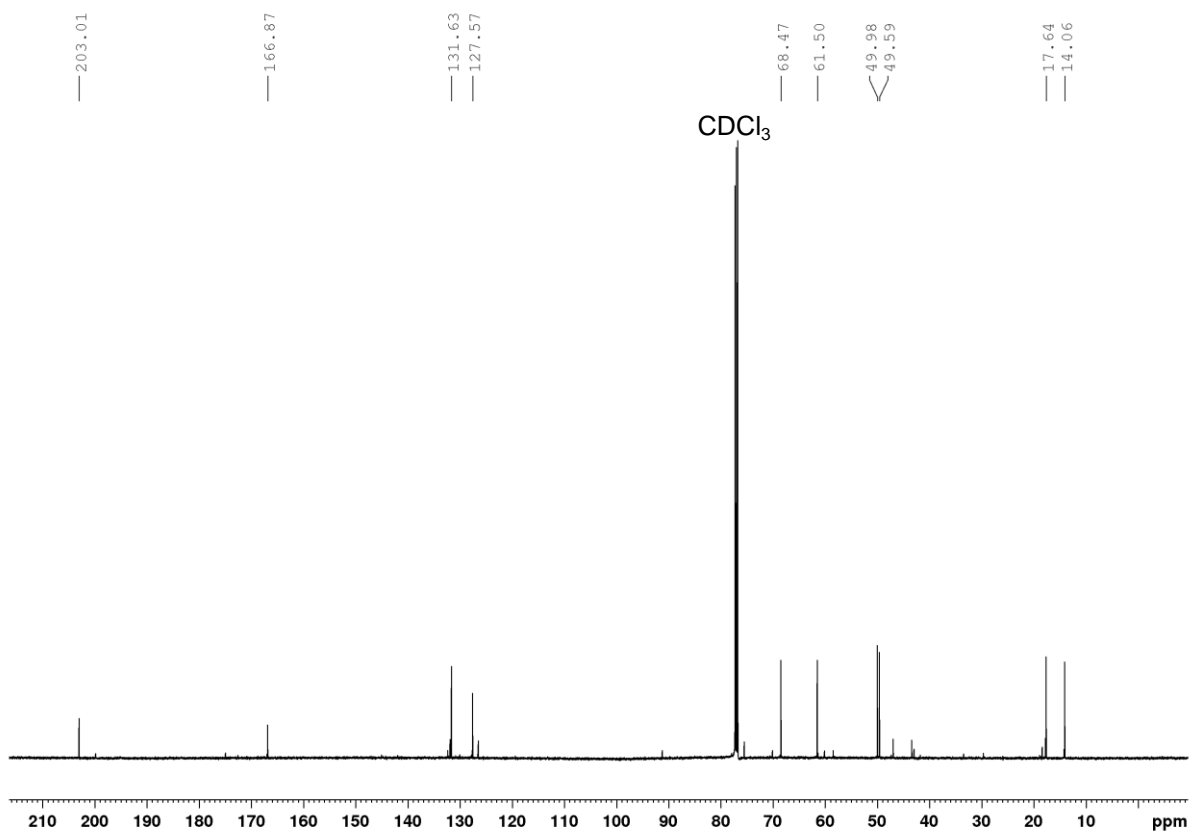
**(5*S*,*E*)-Ethyl-5-hydroxy-2-methyl-3-oxo-7-phenylhept-6-enoat ((*S*)-99b)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

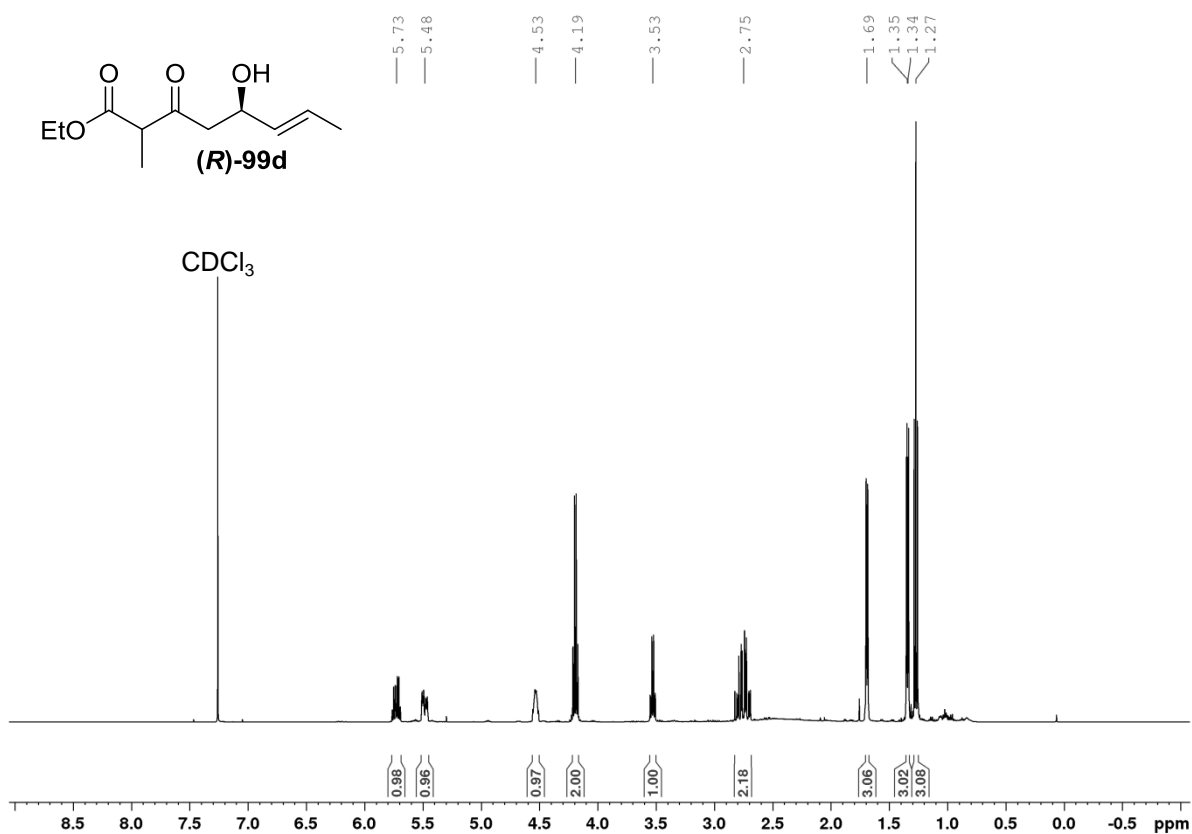
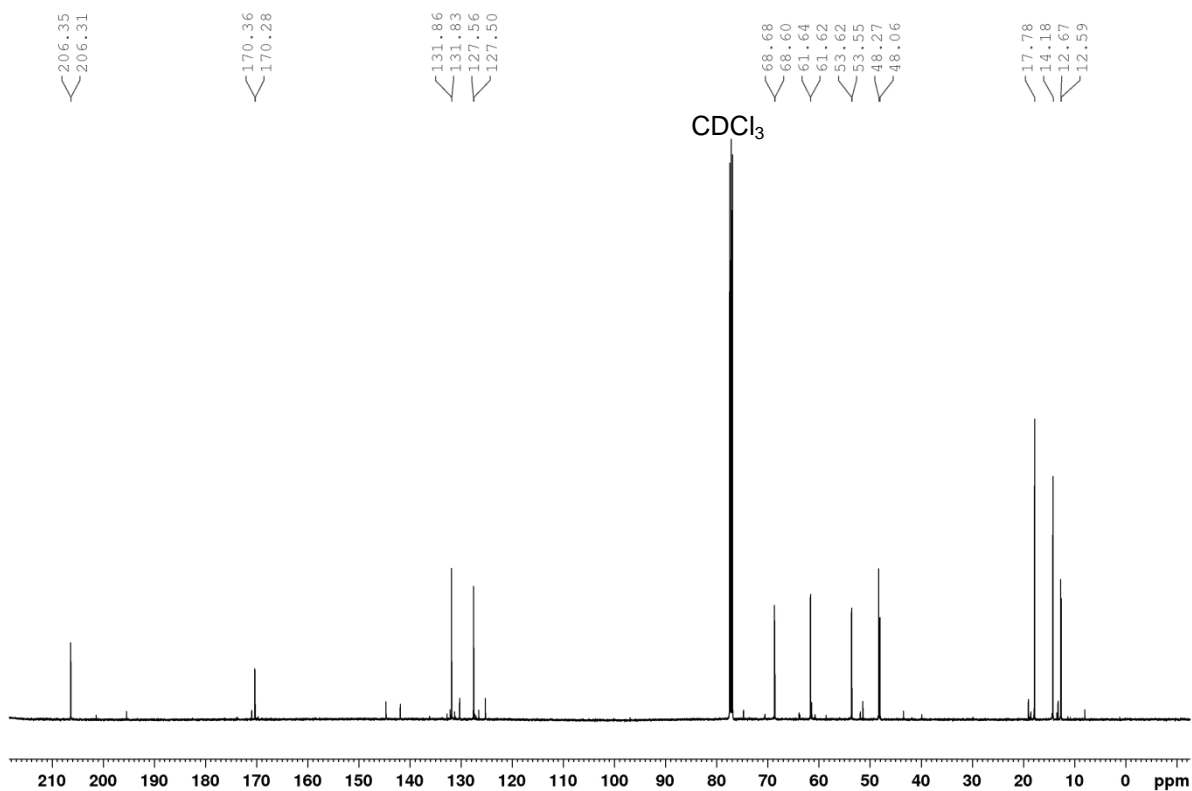
**Ethyl-(*R,E*)-5-hydroxy-3-oxo-7-phenylhept-6-enoat ((*R*)-99a)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

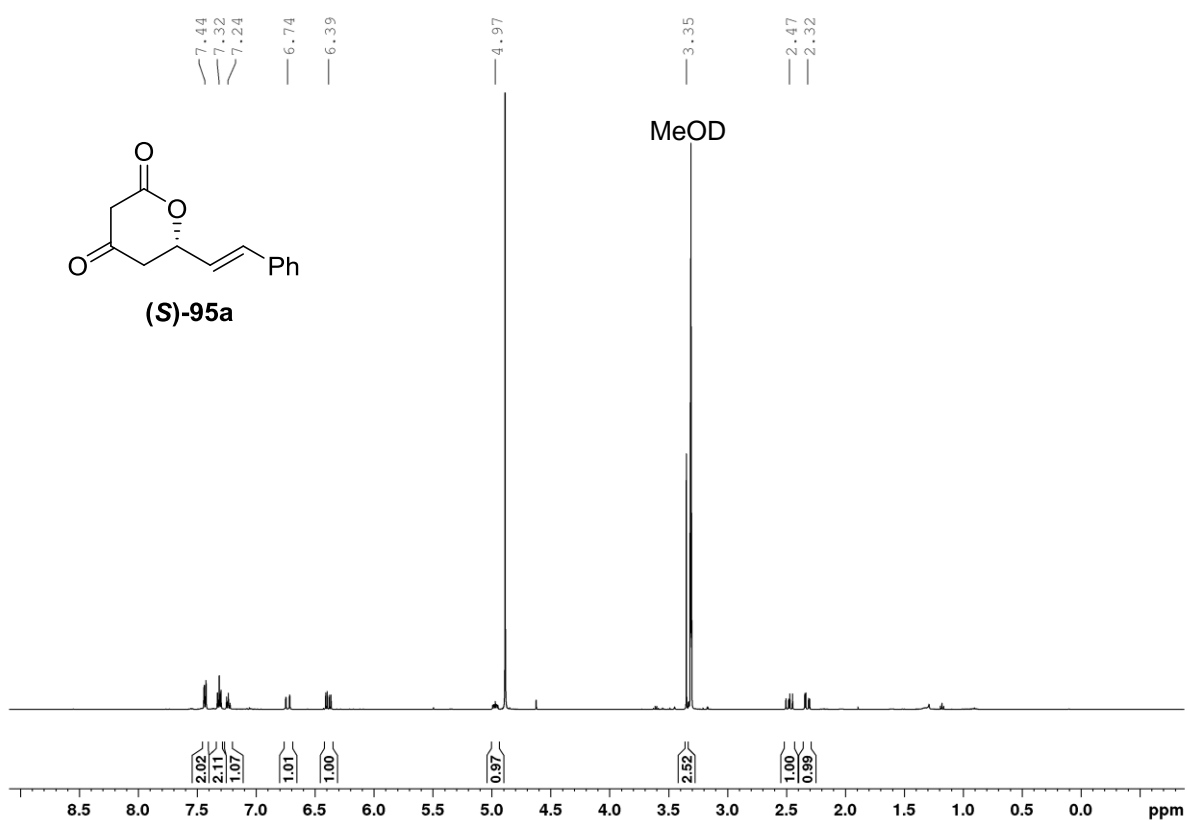


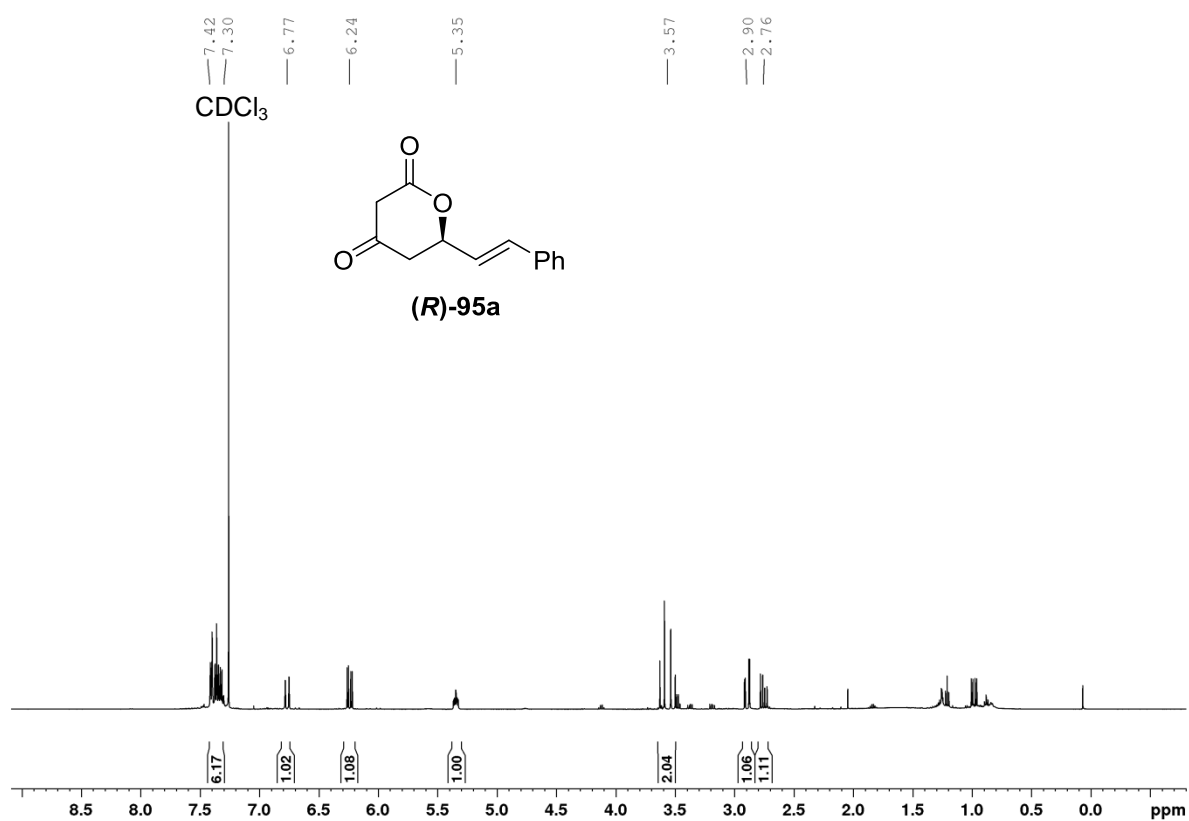
**Ethyl-(*S,E*)-5-hydroxy-3-oxooct-6-enoat ((*S*)-99c)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

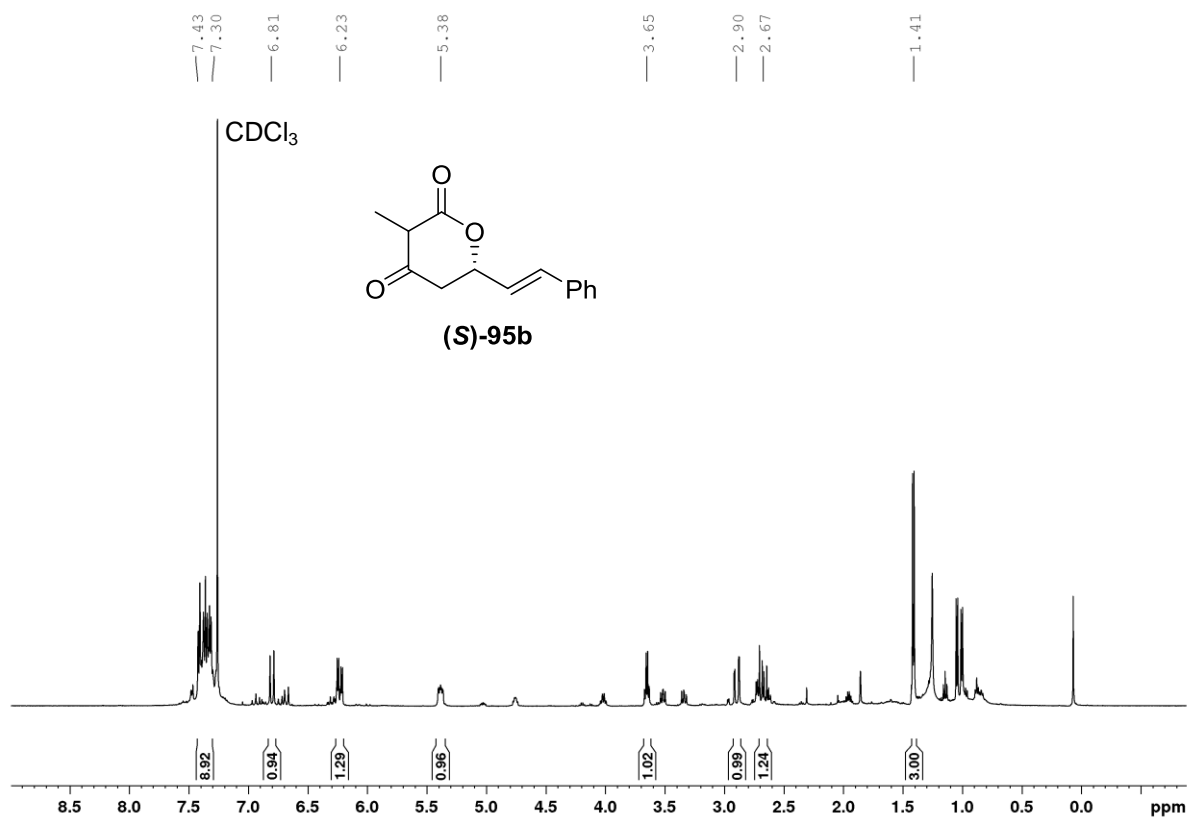
**Ethyl-(5*S*,*E*)-5-hydroxy-2-methyl-3-oxooct-6-enoat ((*S*)-99d)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

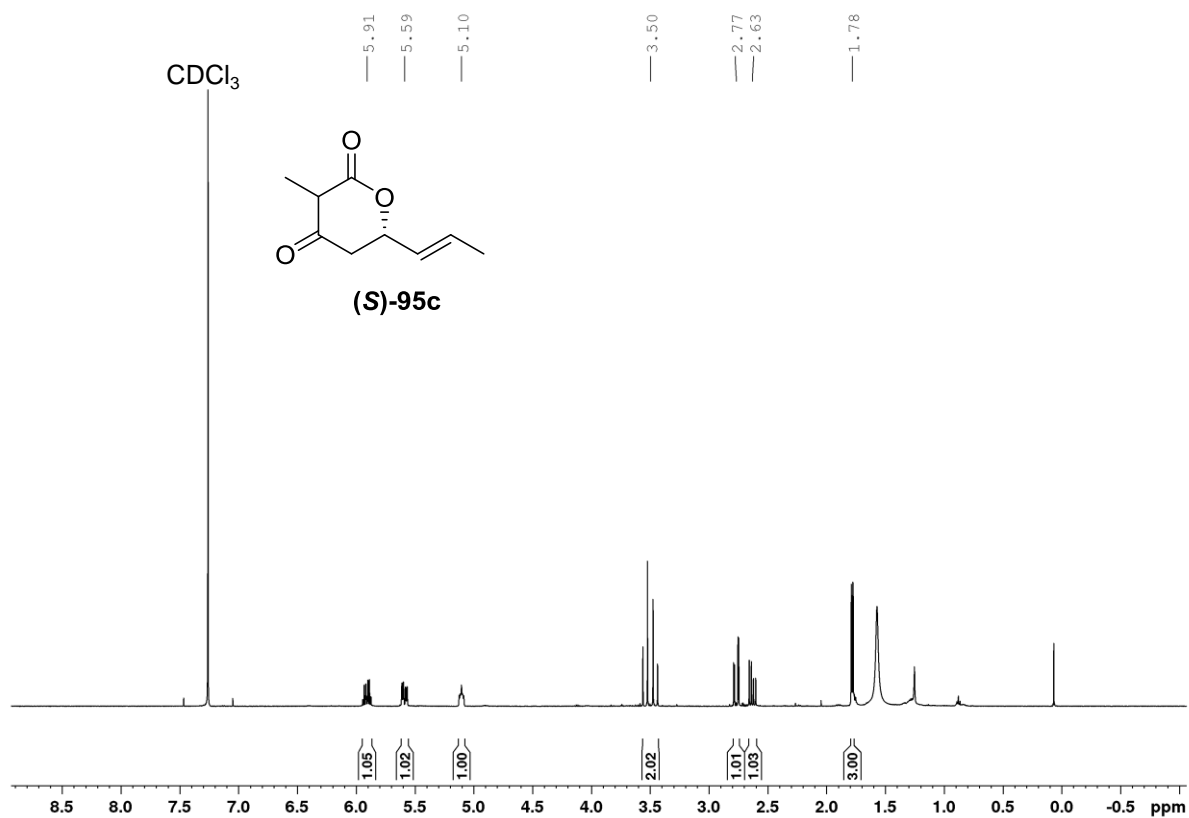
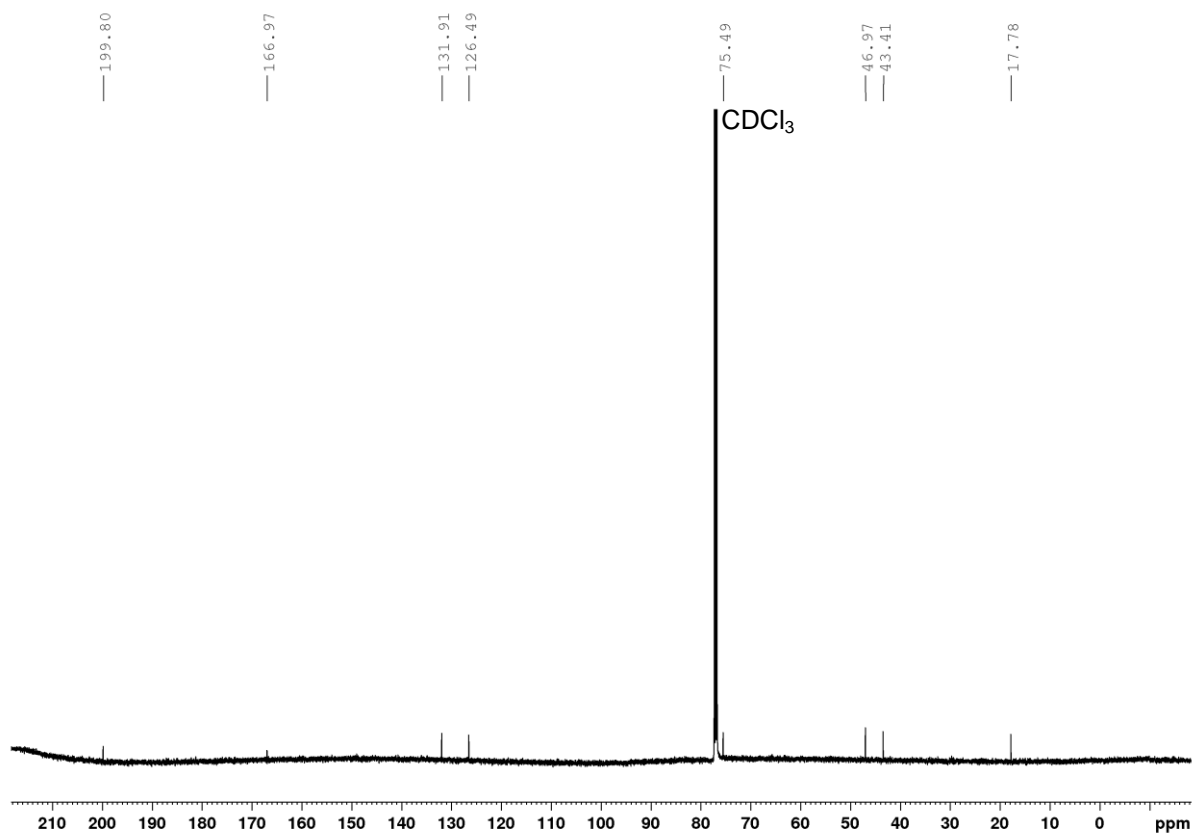
**Ethyl-(*R,E*)-5-hydroxy-3-oxooct-6-enoat ((*R*)-99c)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**Ethyl-(5*R,E*)-5-hydroxy-2-methyl-3-oxooct-6-enoat ((*R*)-99d)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

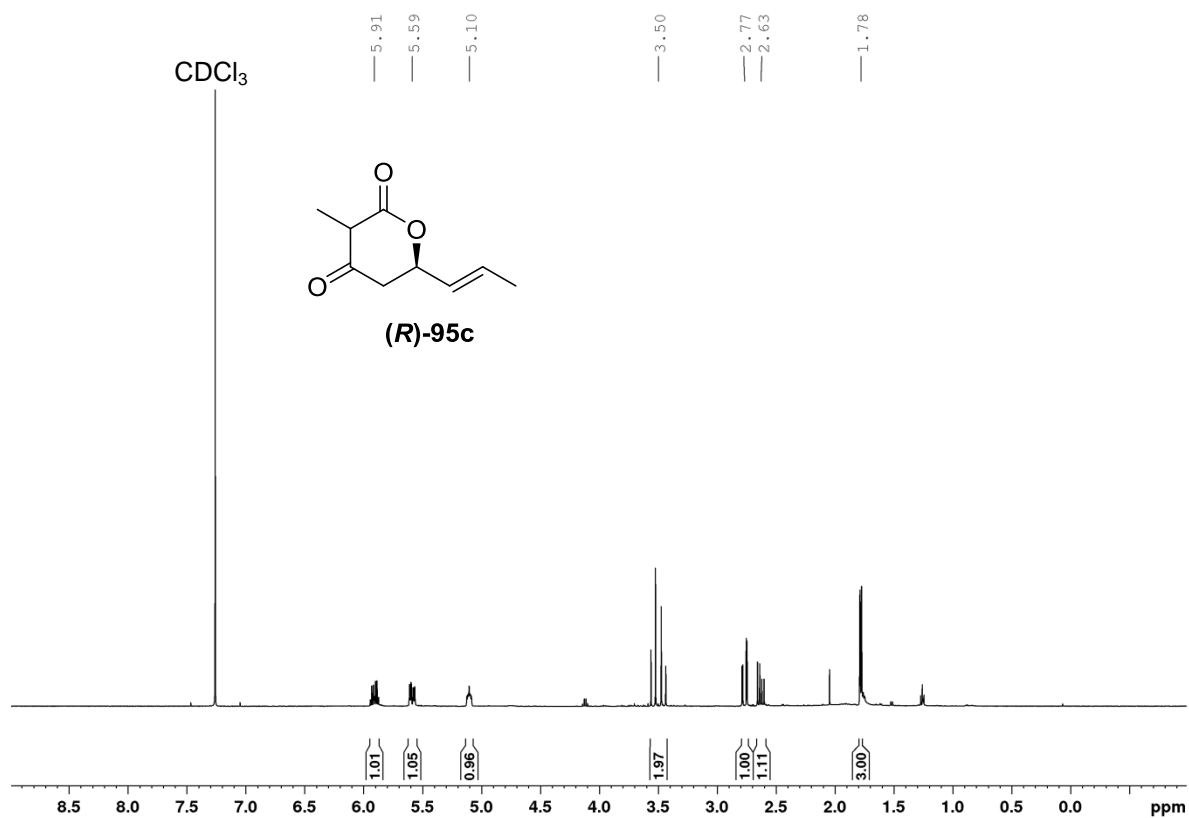
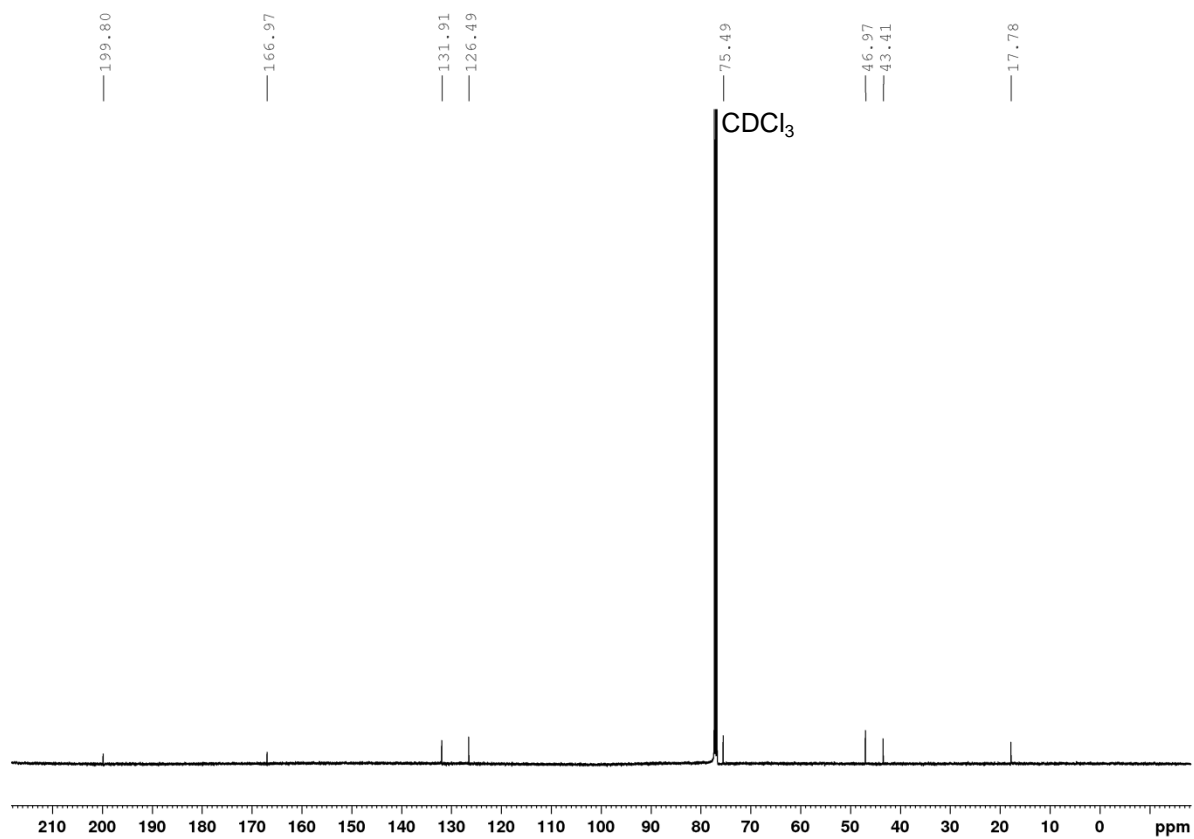
**(S,E)-6-styryldihydro-2H-pyran-2,4(3H)-dion ((S)-95a)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

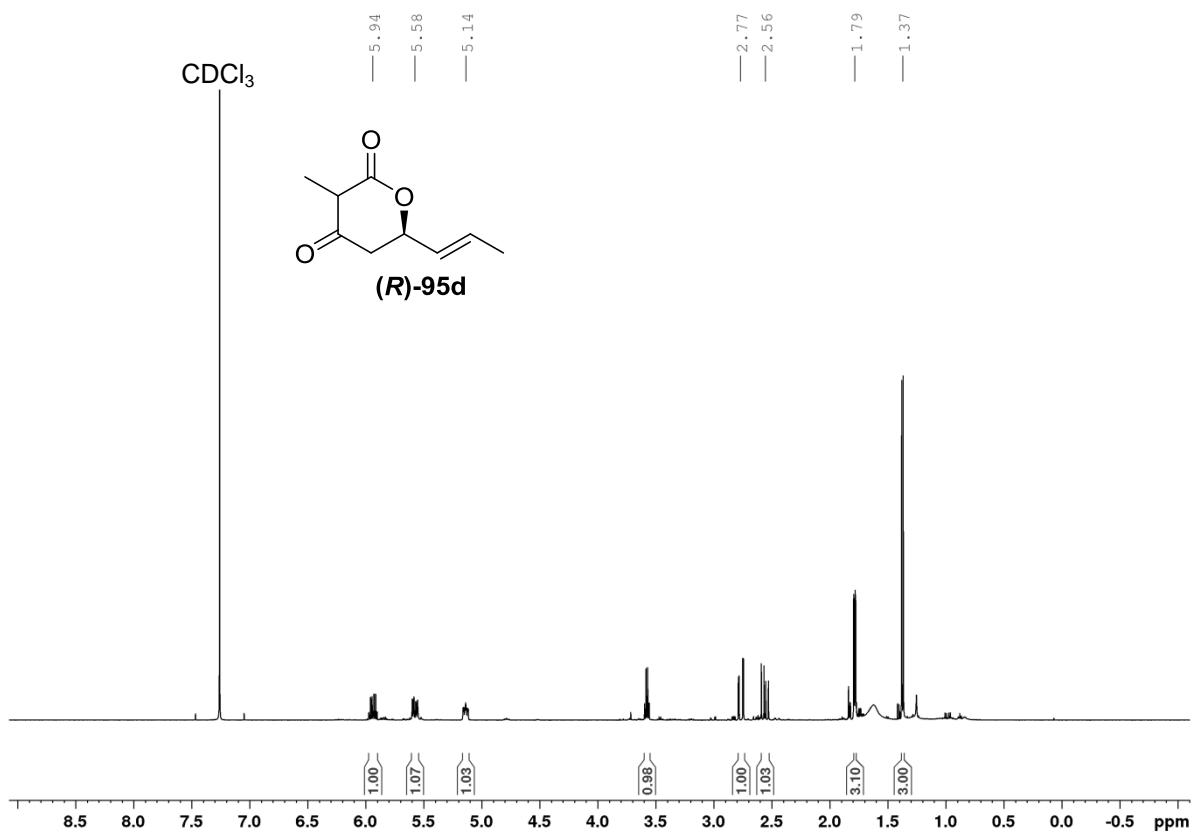
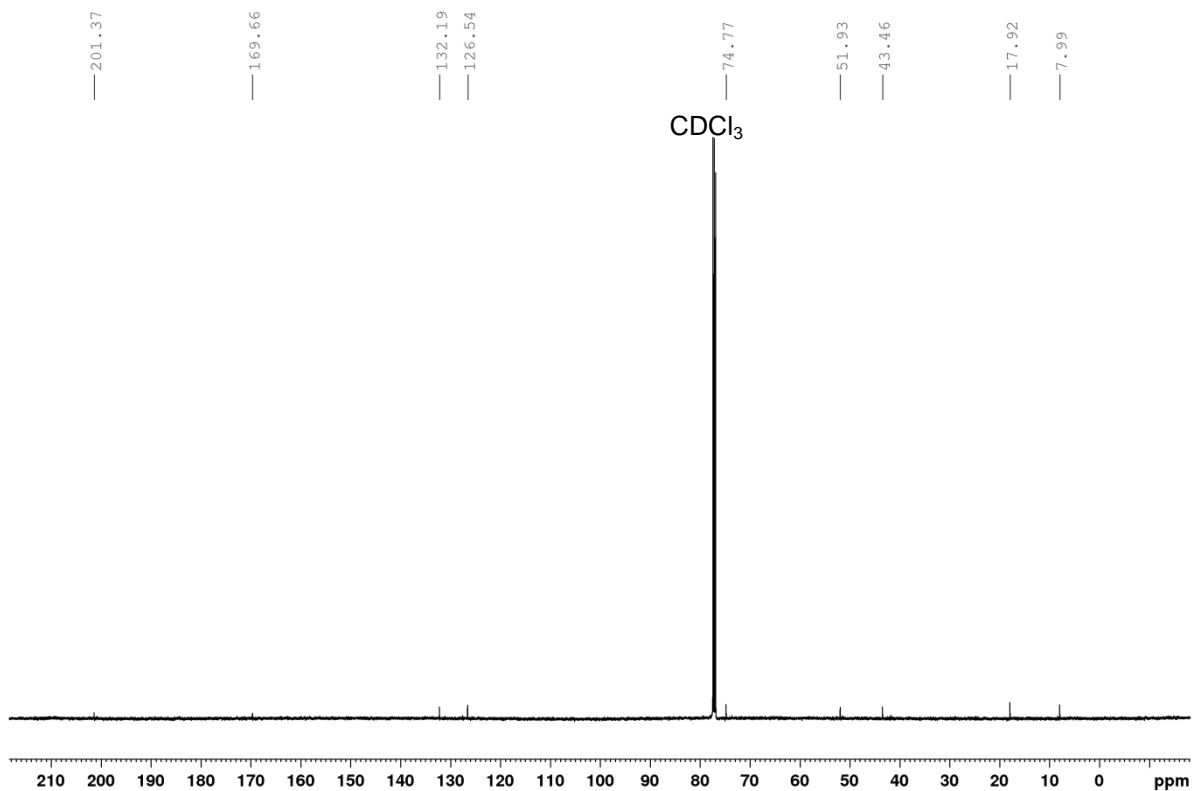
**(*R,E*)-6-styryldihydro-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dion ((*R*)-95a)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

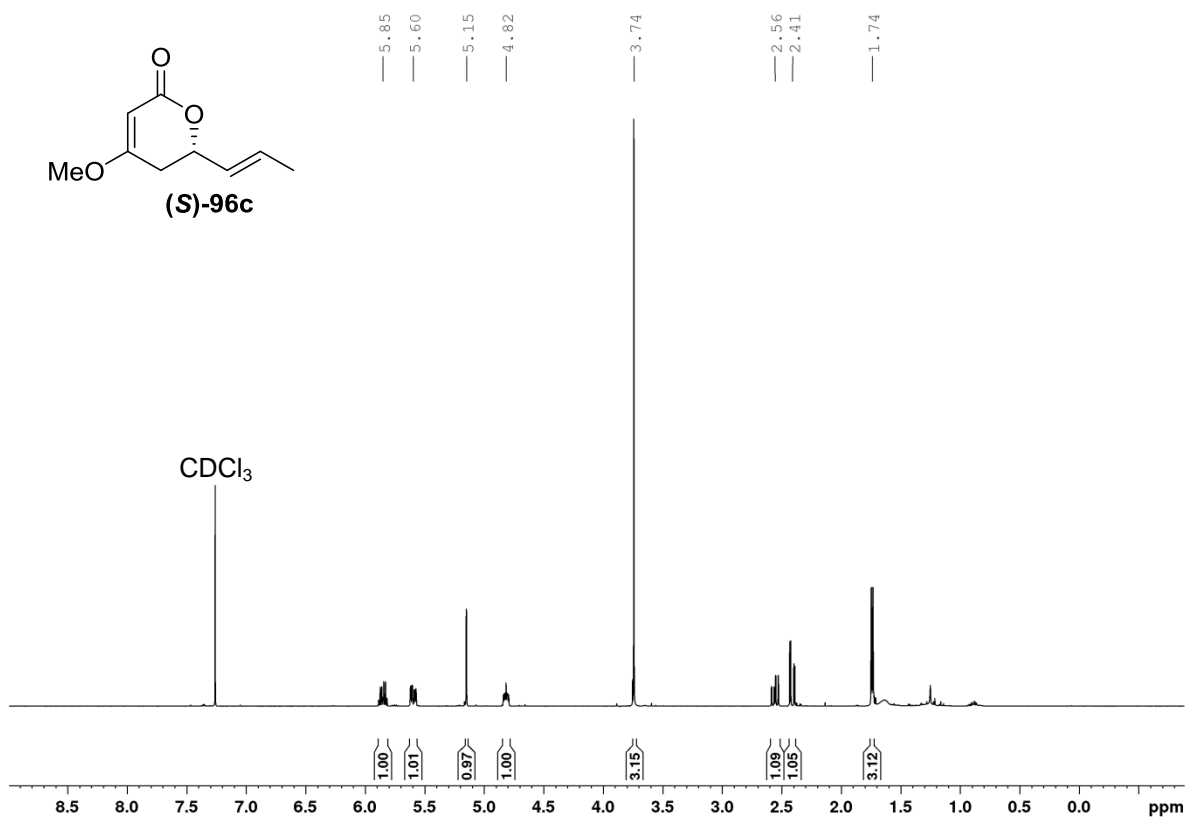
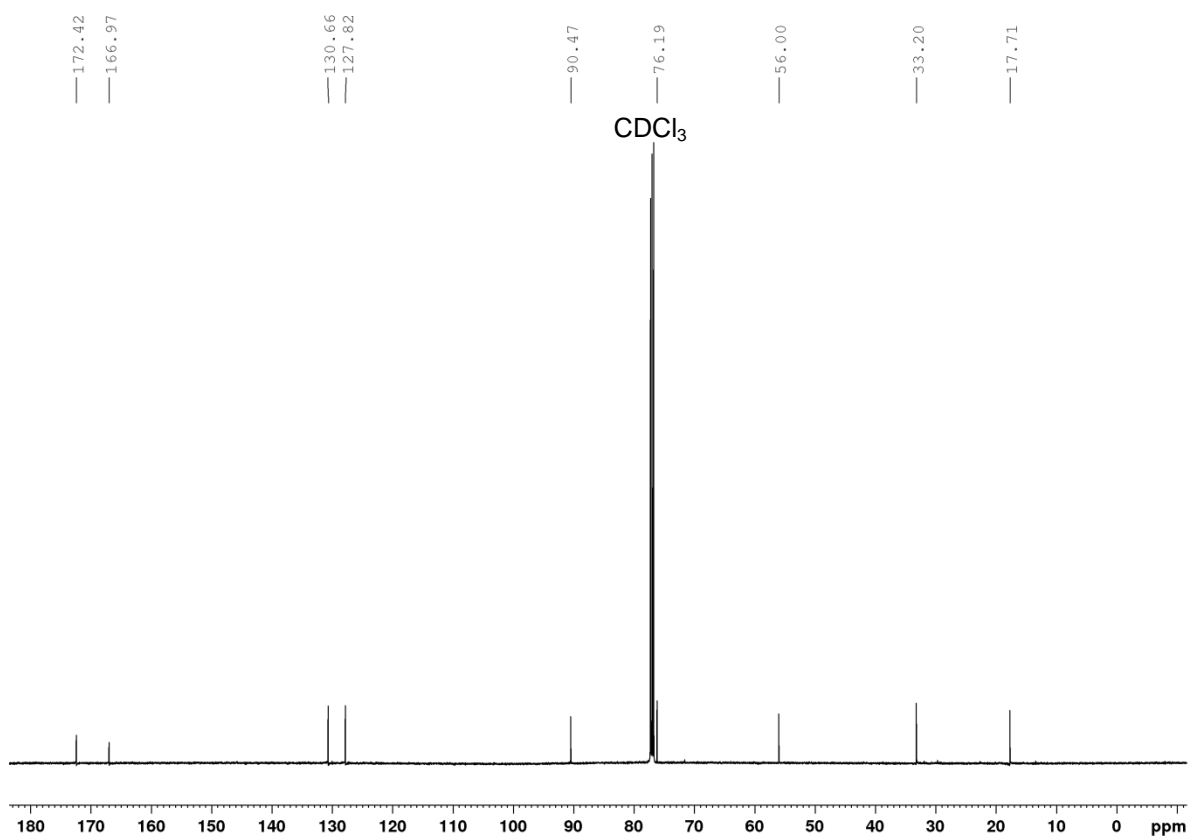
**(6*S*)-3-methyl-6-((*E*)-styryl)dihydro-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dion ((*S*)-95b)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

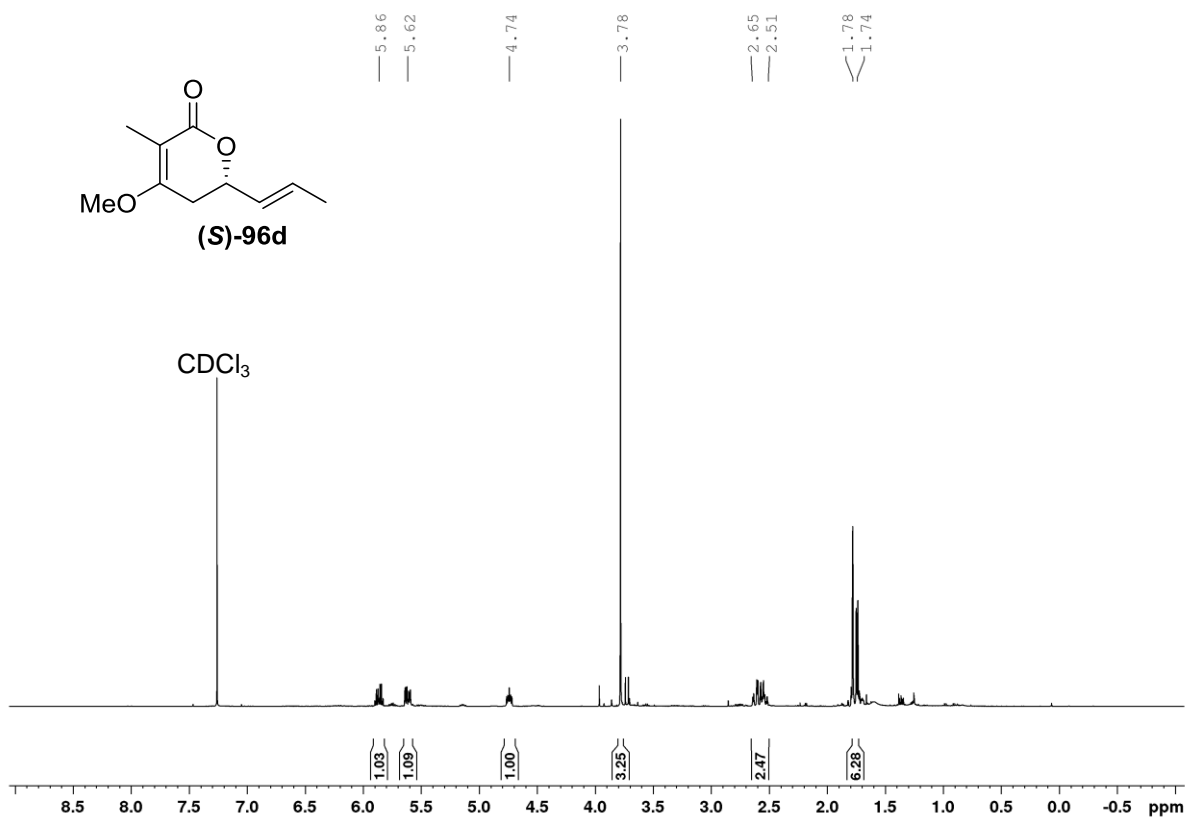
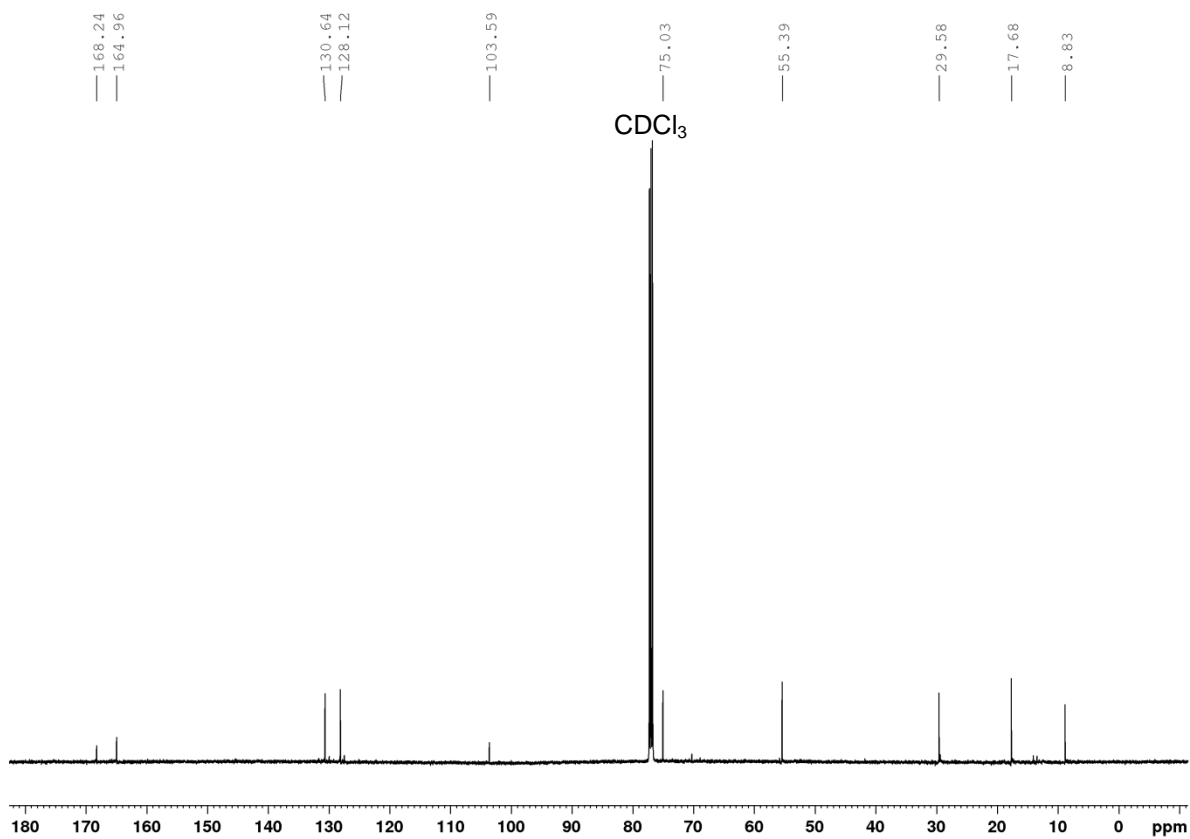
**(*S,E*)-6-(Prop-1-en-1-yl)dihydro-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dion ((*S*)-95c)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

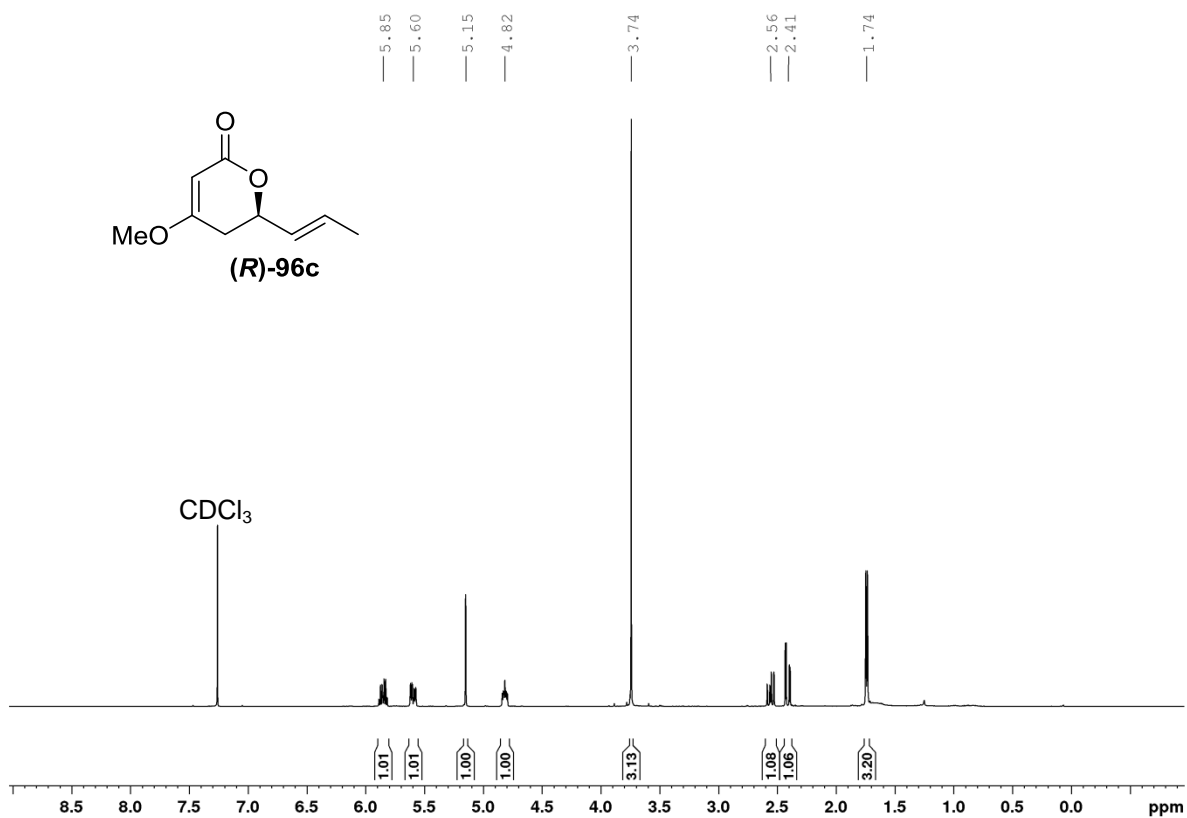
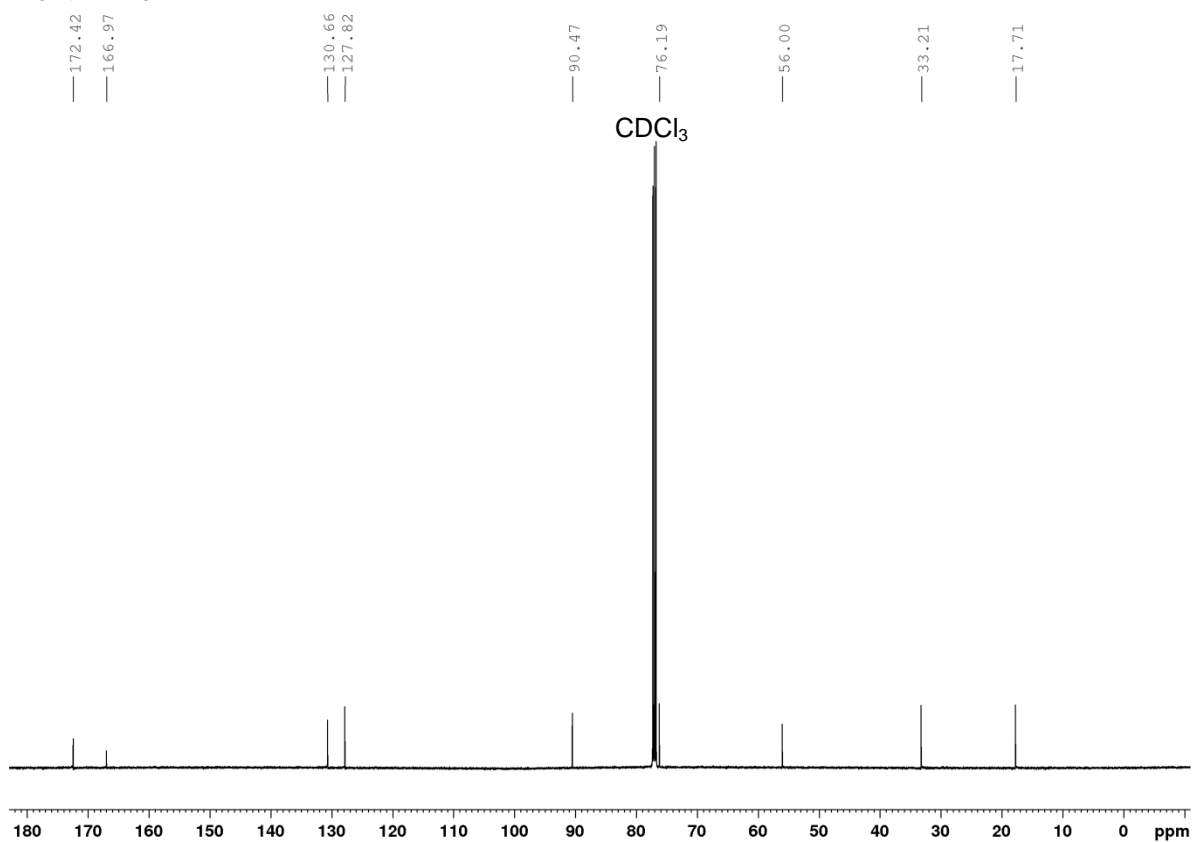


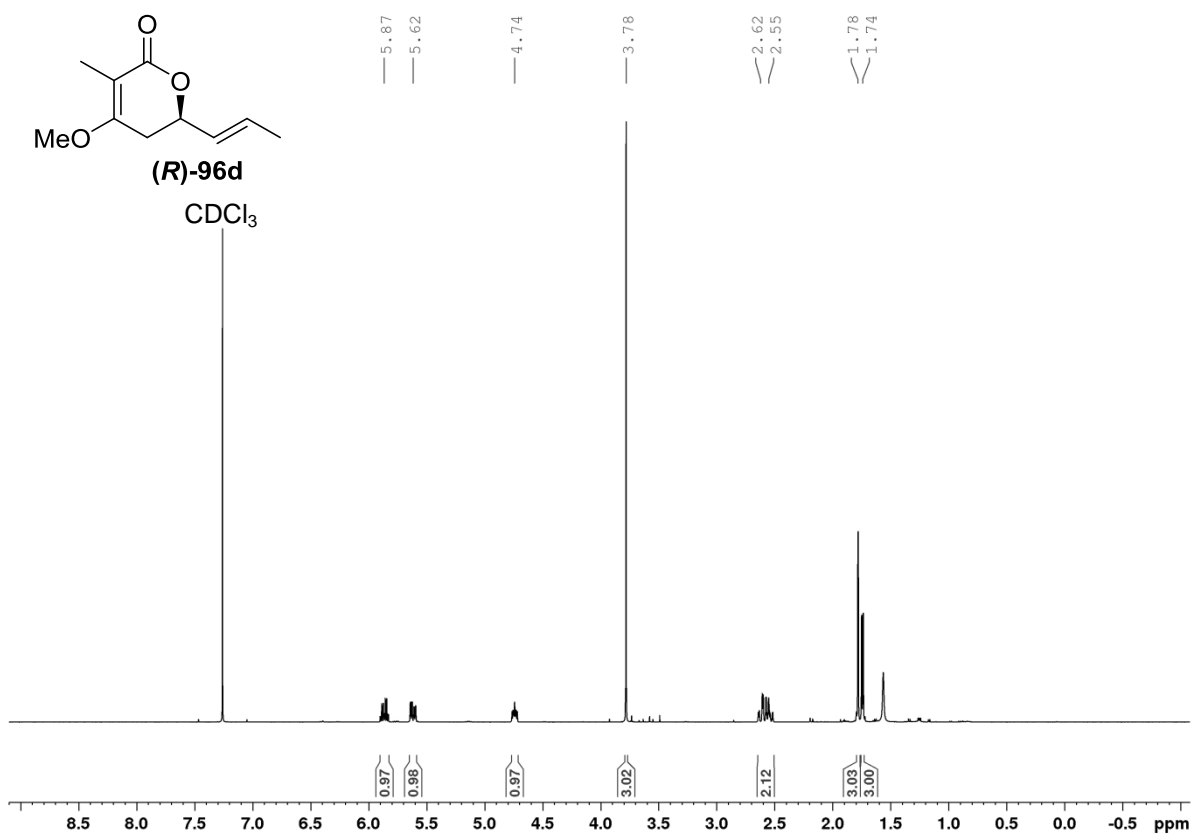
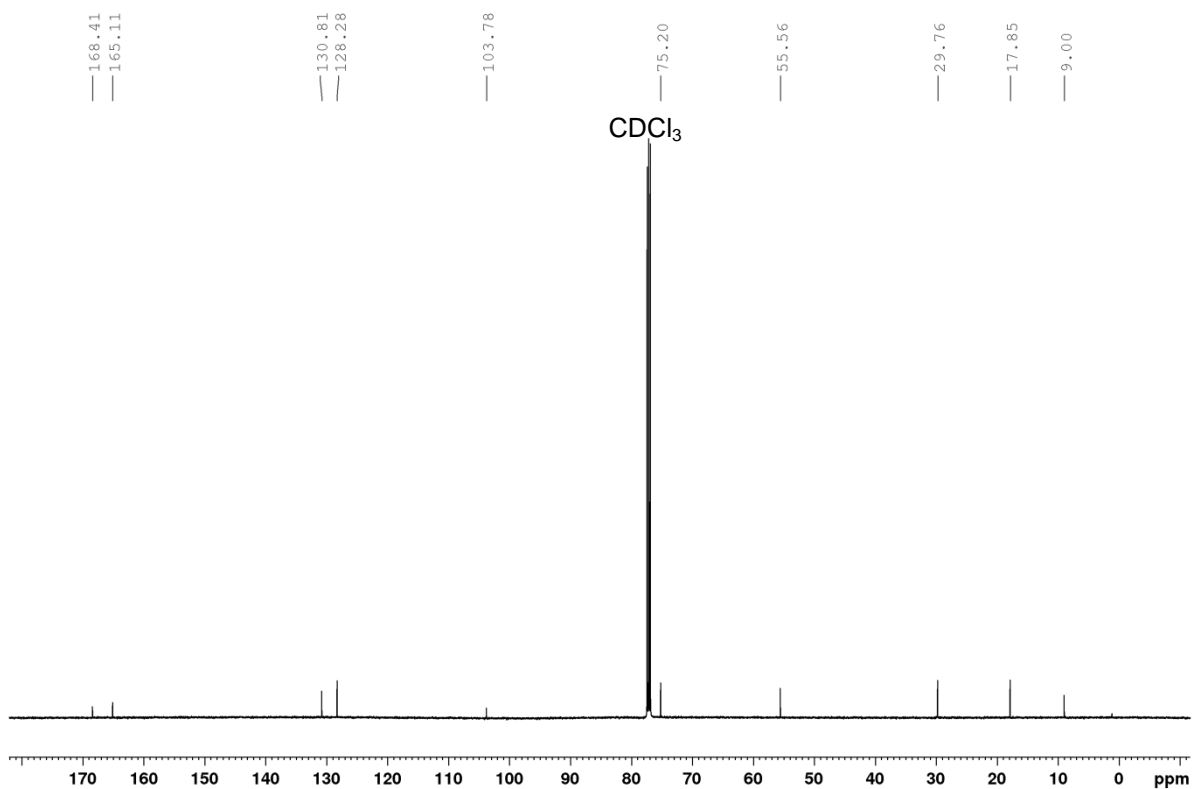
**(*R,E*)-6-(Prop-1-en-1-yl)dihydro-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dion ((*R*)-95c)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

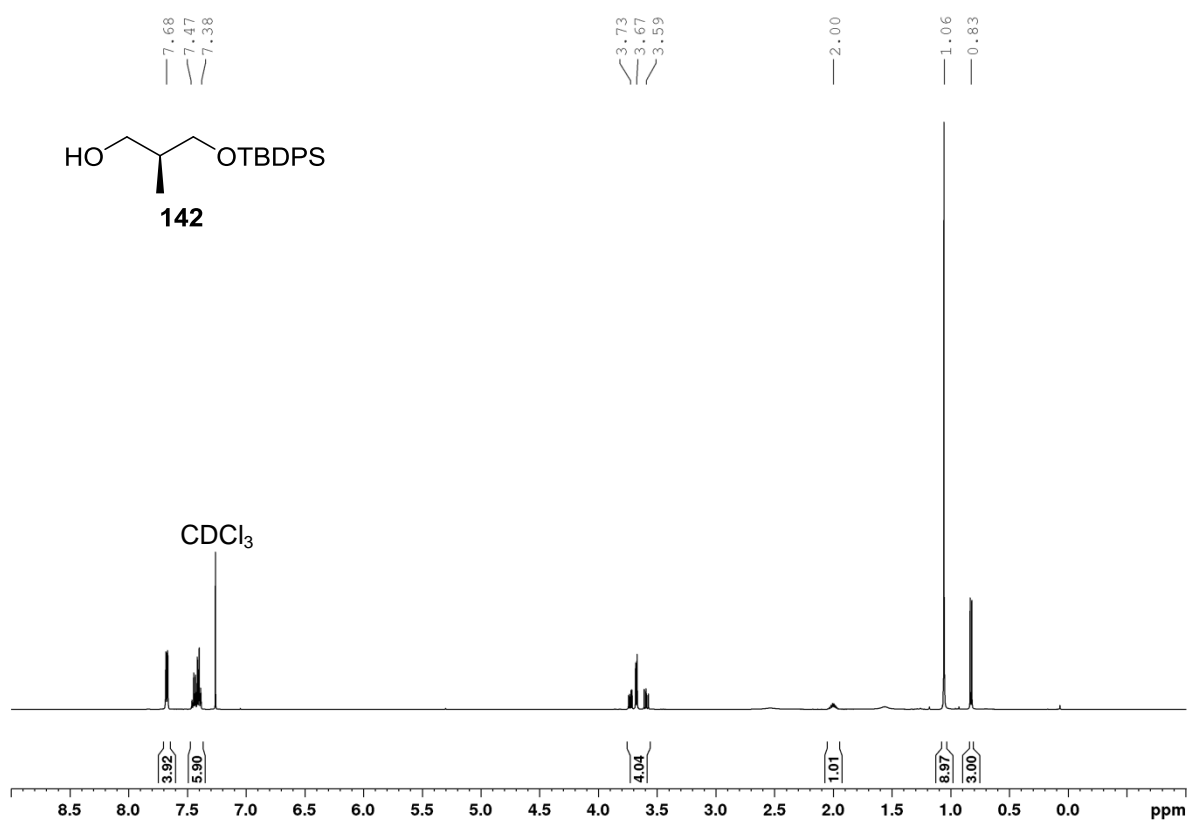
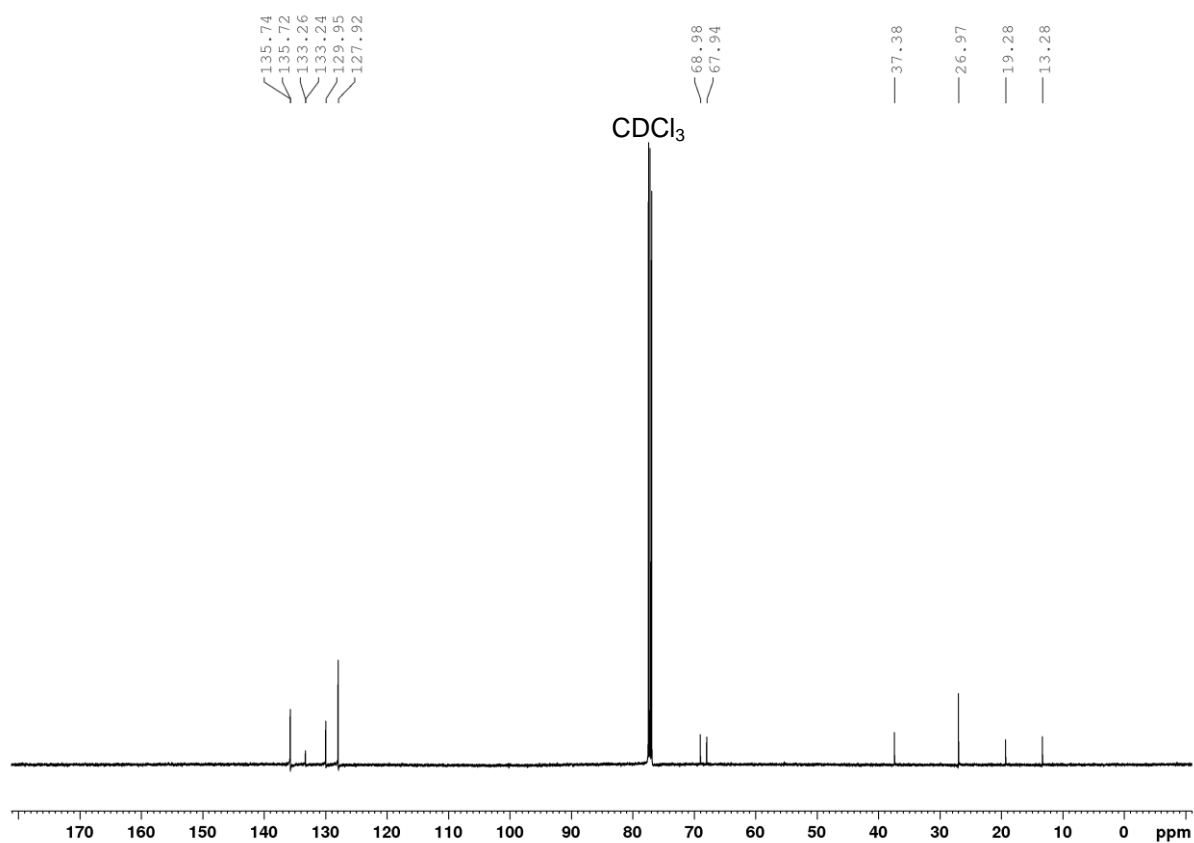
**(6*R*)-3-Methyl-6-((*E*)-prop-1-en-1-yl)dihydro-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dion ((*R*)-95d)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

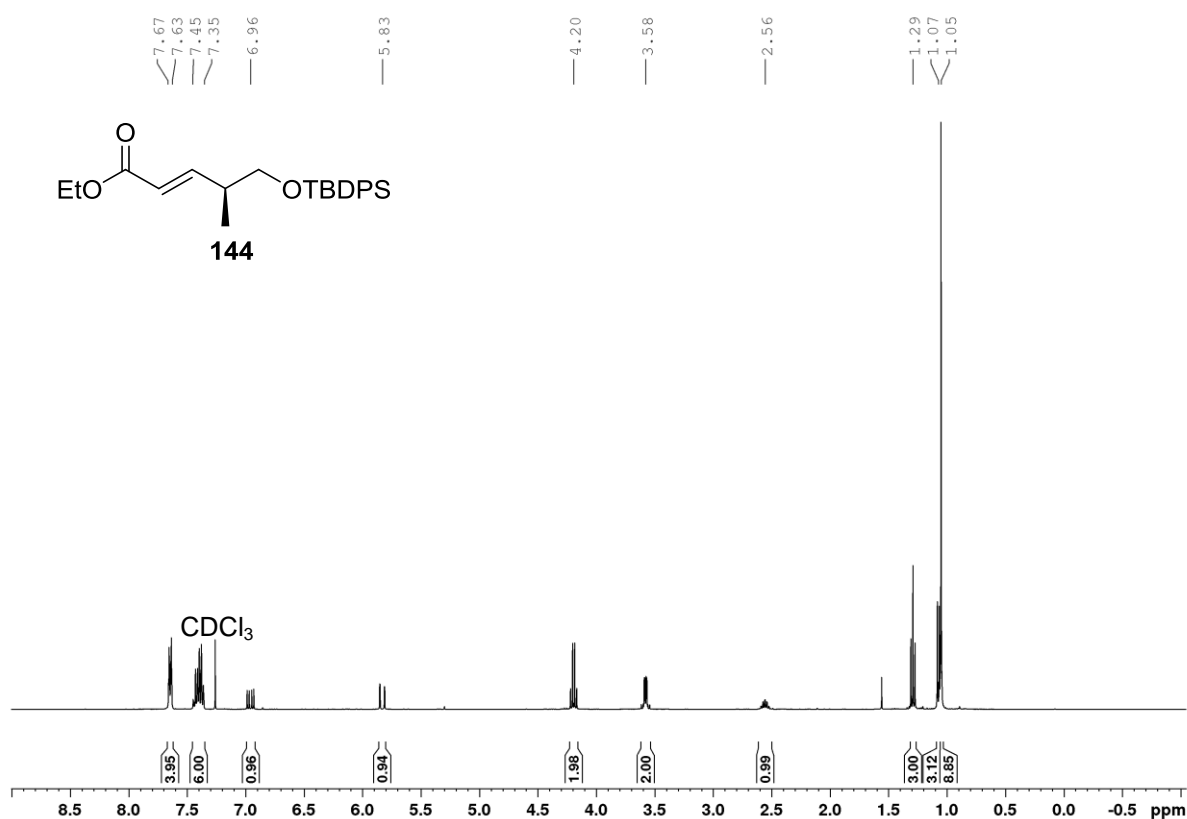
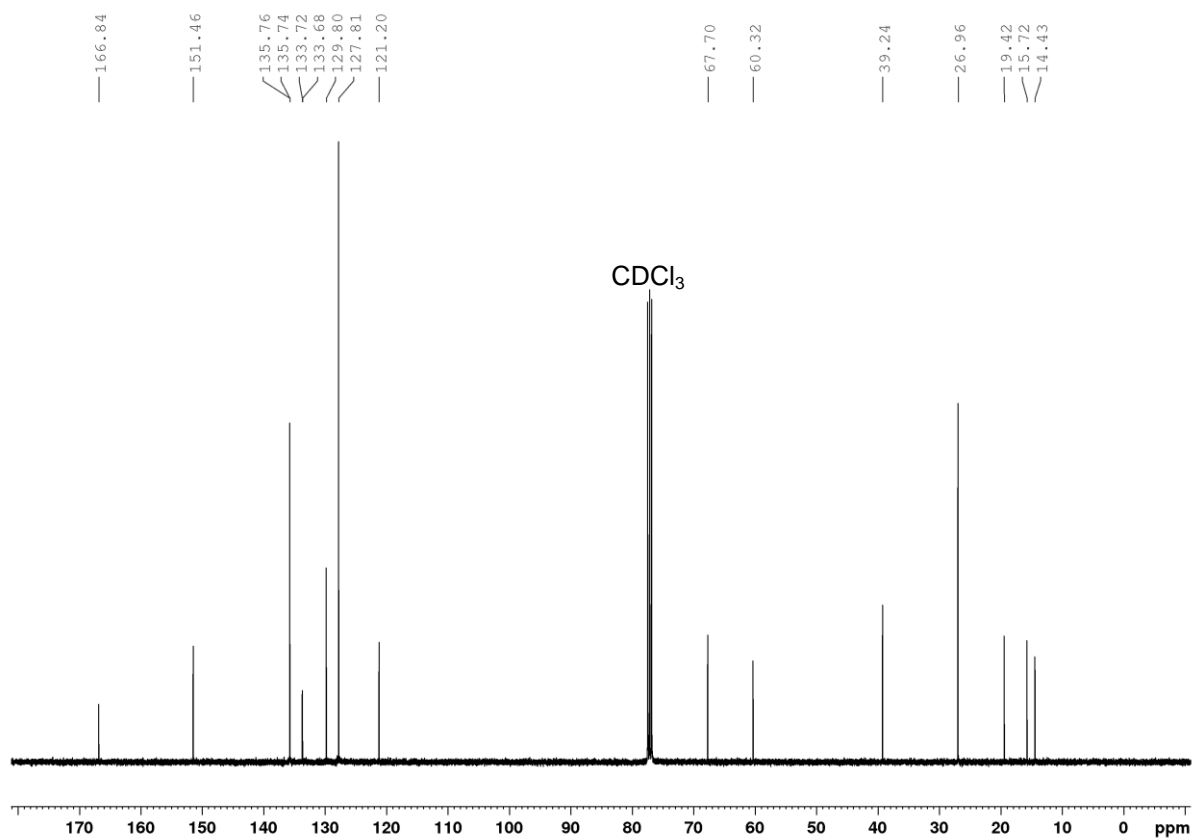
**(*S,E*)-4-Methoxy-6-(prop-1-en-1-yl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-on ((*S*)-96c)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(*S,E*)-4-Methoxy-3-methyl-6-(prop-1-en-1-yl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-on ((*S*)-96d)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

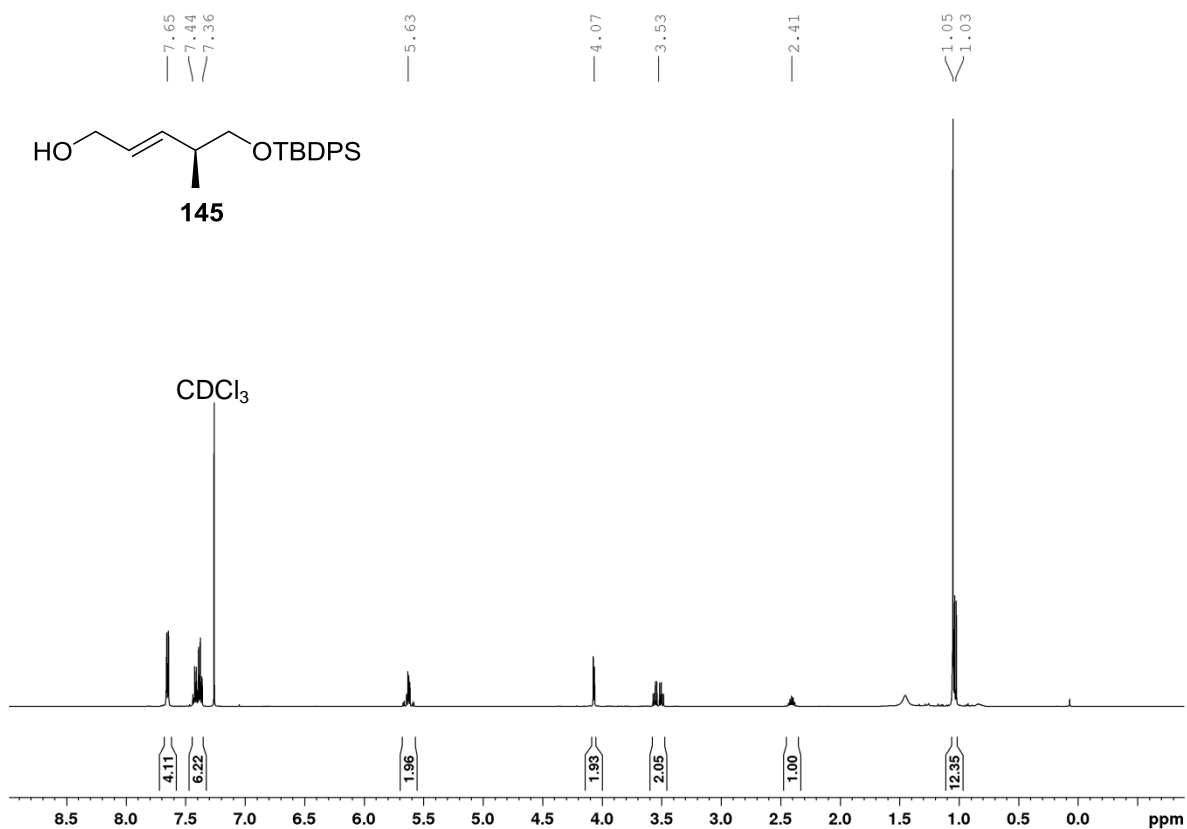
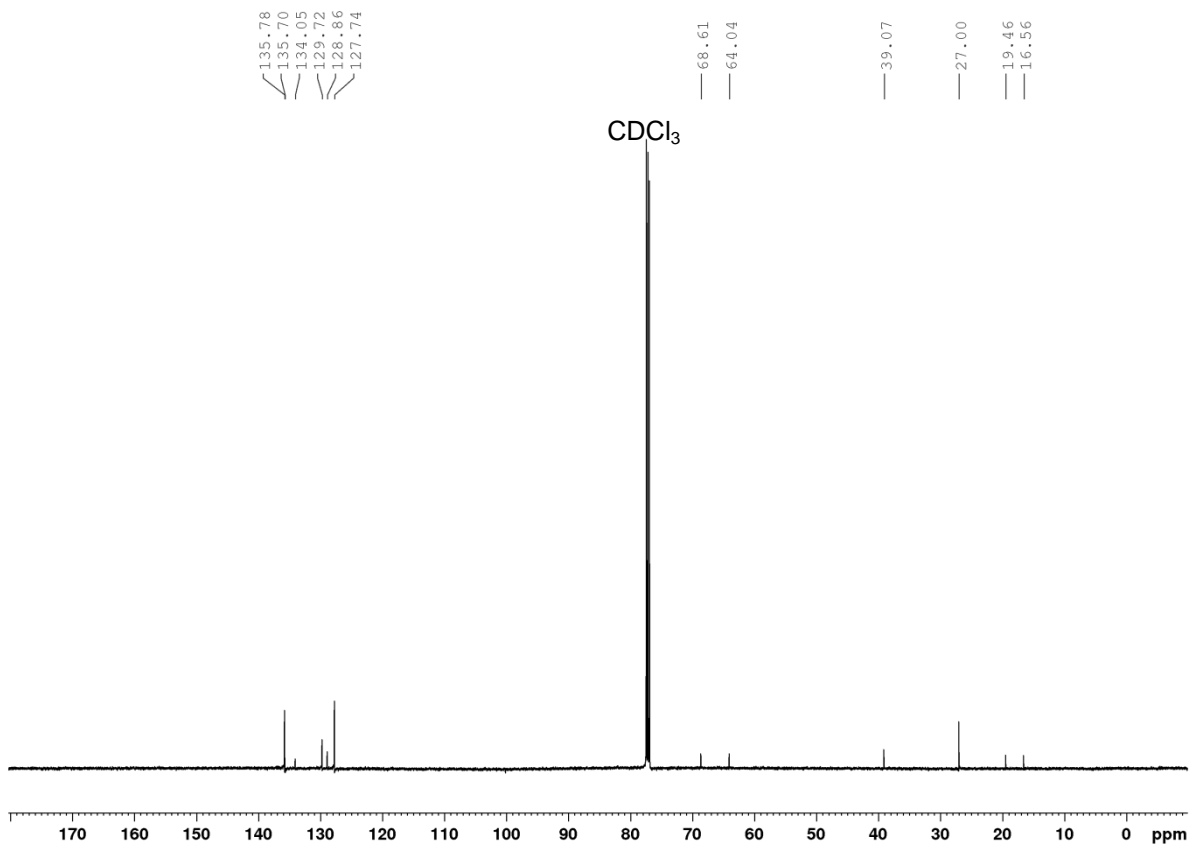
**(*R,E*)-4-Methoxy-6-(prop-1-en-1-yl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-on ((*R*)-96c)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

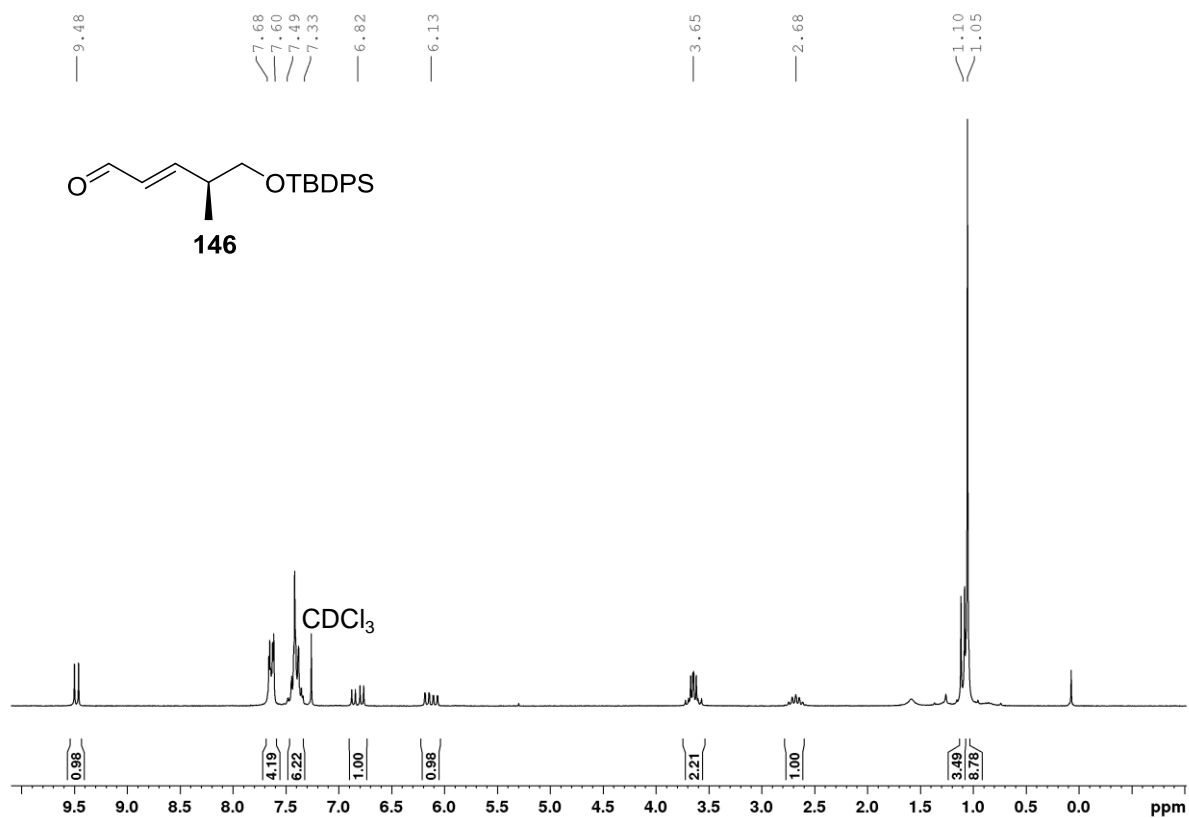
**(*R,E*)-4-Methoxy-3-methyl-6-(prop-1-en-1-yl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-on ((*R*)-96d)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(S)-3-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-2-methylpropanol (142)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**Ethyl-(*S,E*)-5-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-4-methylpent-2-enoat (144)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

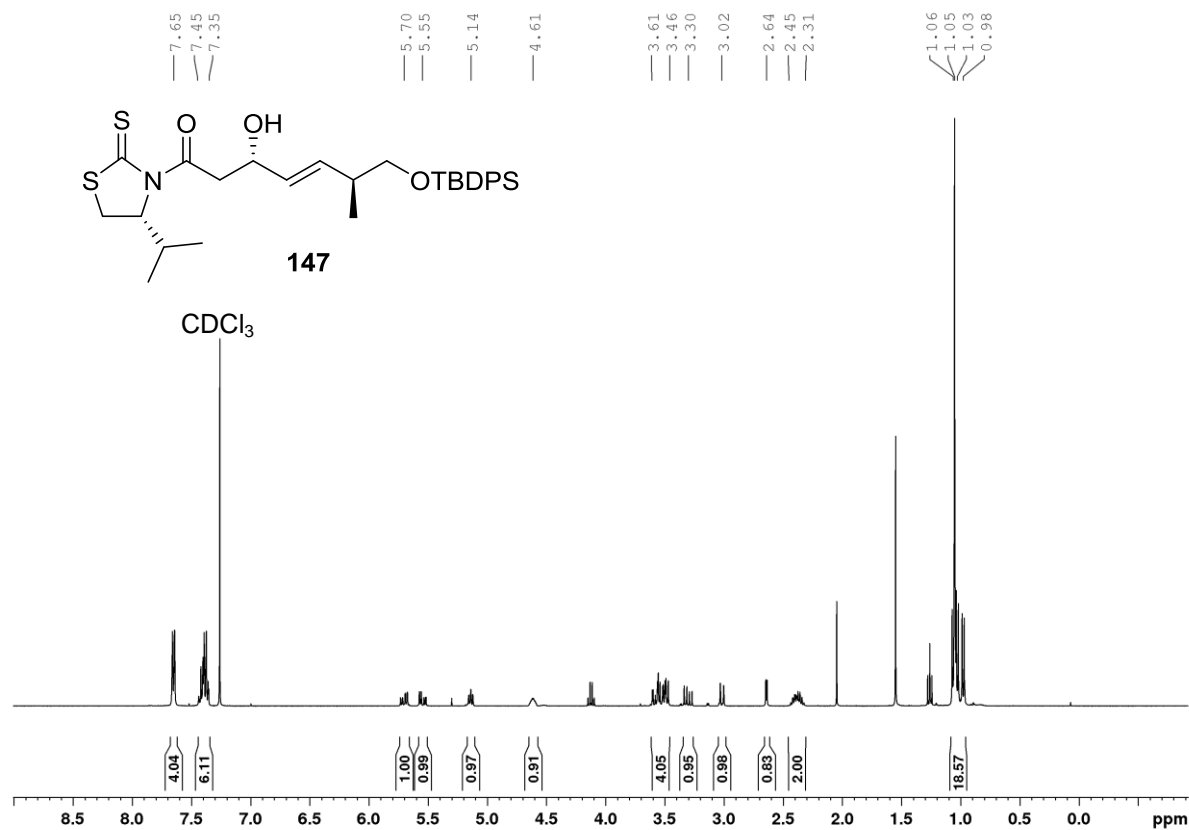


**(*S,E*)-5-((*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-4-methylpent-2-enol (145)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

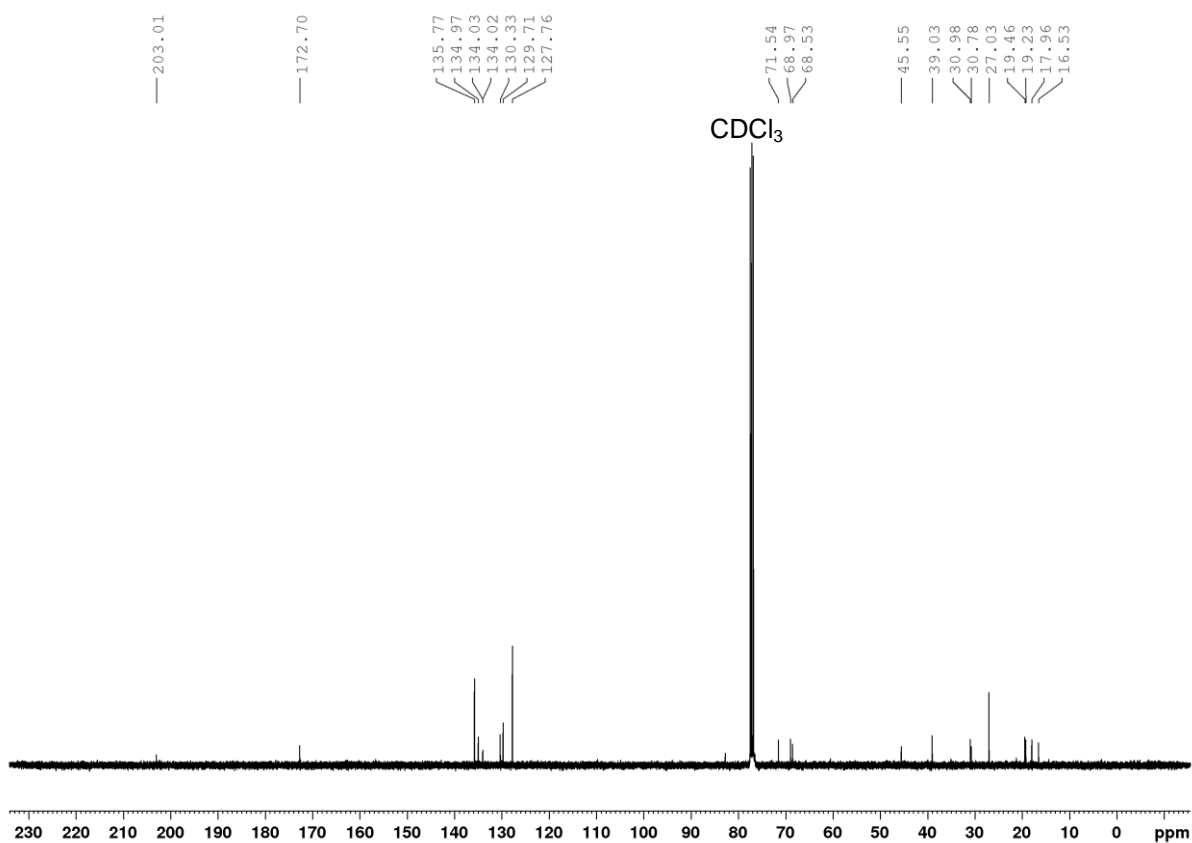
**(S,E)-5-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-4-methylpent-2-enal (146)**<sup>1</sup>H-NMR 200 MHz

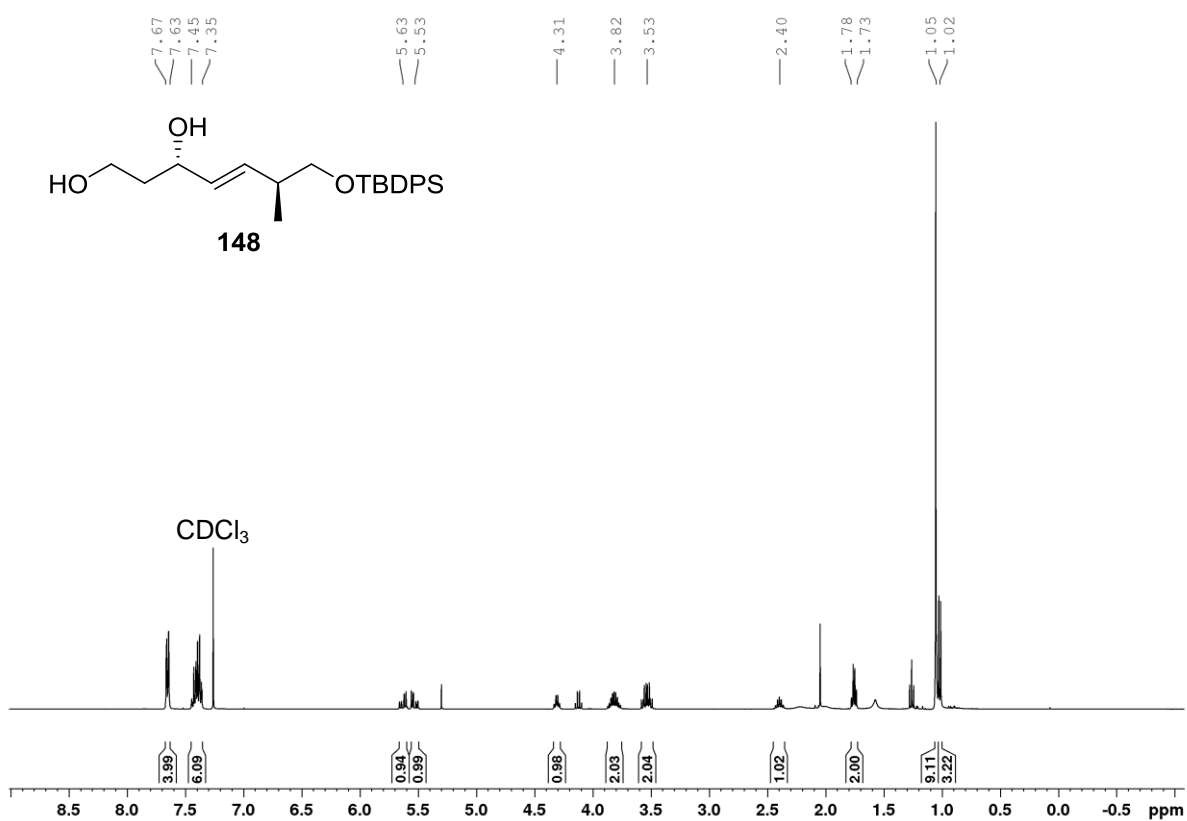
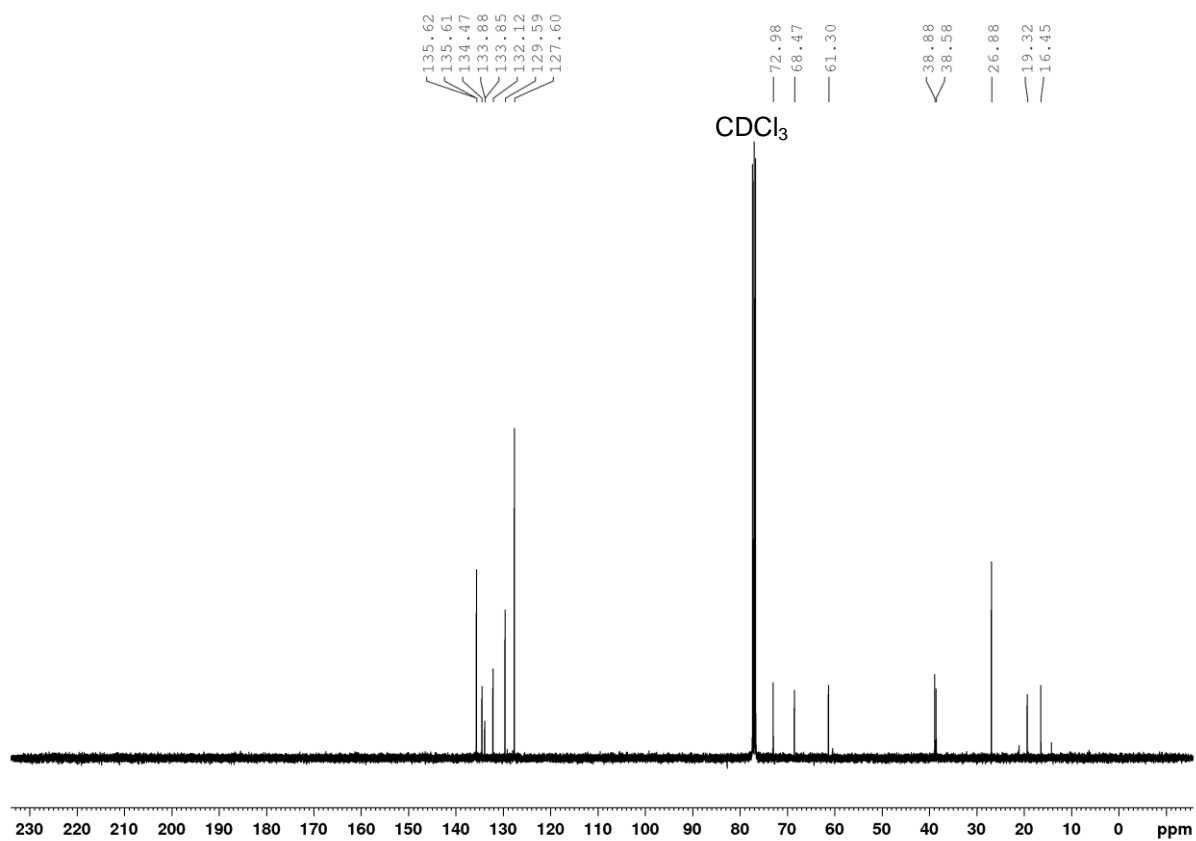
**(3*S*,6*S*,*E*)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-3-hydroxy-1-((*R*)-4-isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)-6-methylhept-4-enon (147)**

<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz



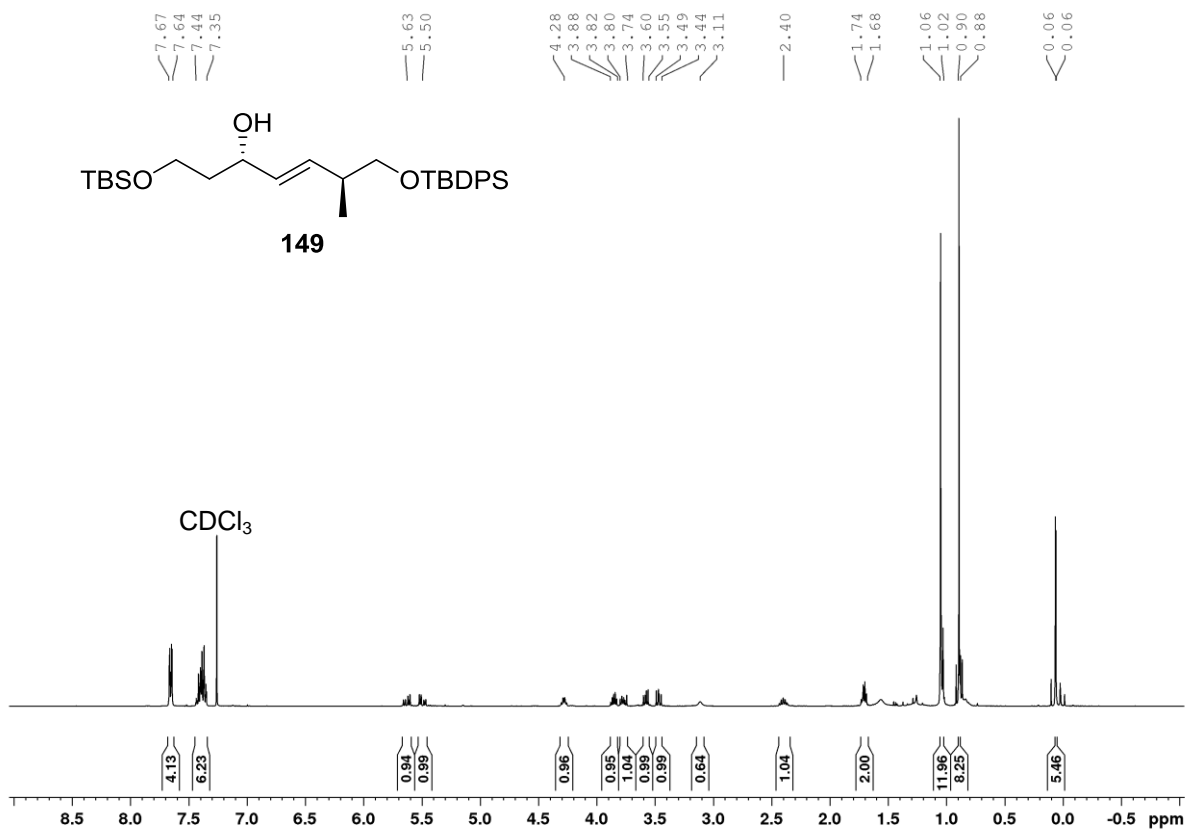
<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz



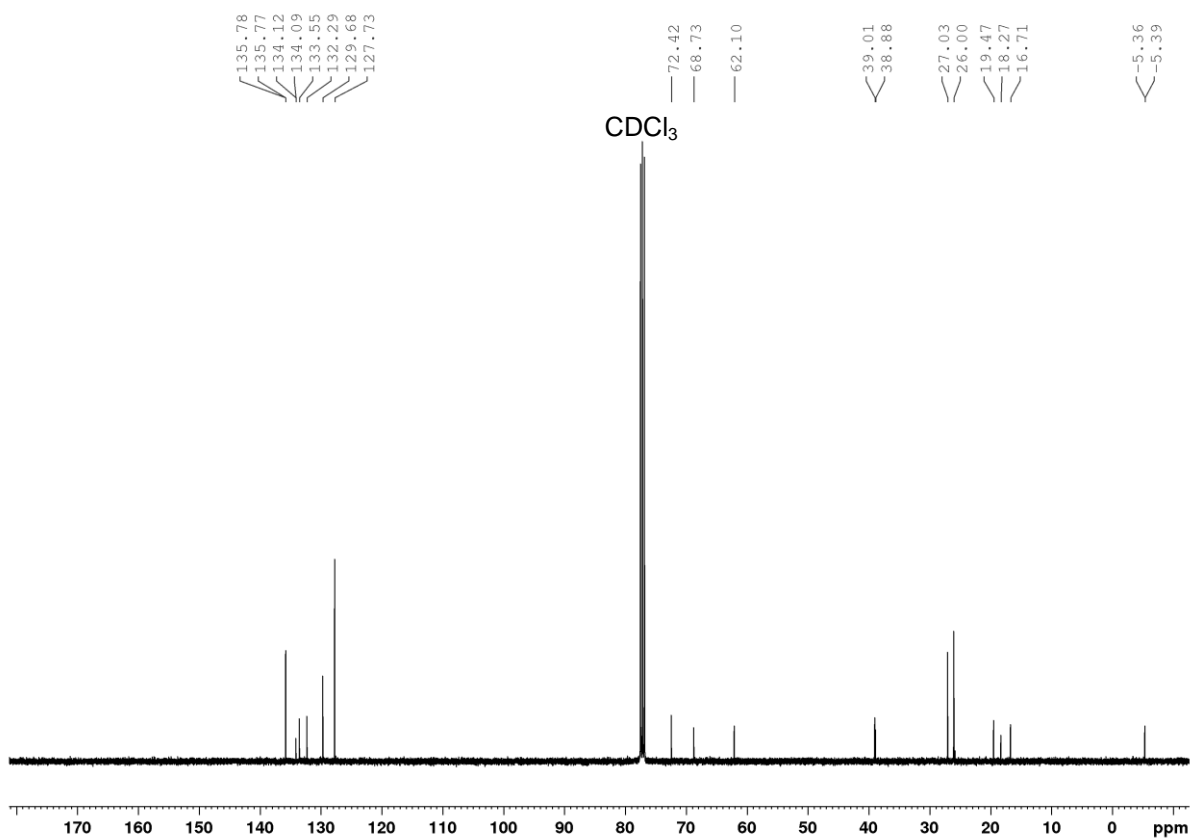
**(3*S*,6*S*,*E*)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-6-methylhept-4-en-1,3-diol (148)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

**(3*S*,6*S*,*E*)-1-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-6-methylhept-4-en-3-ol (149)**

<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz

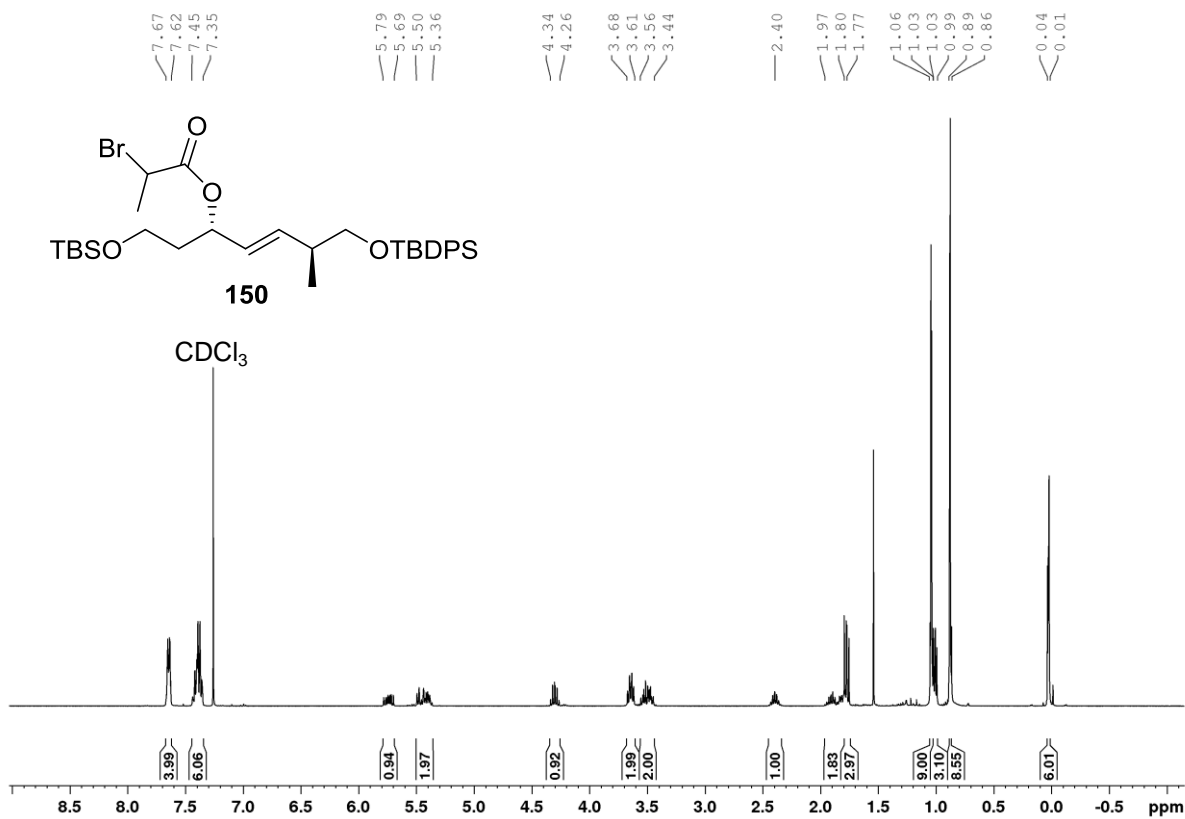


<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

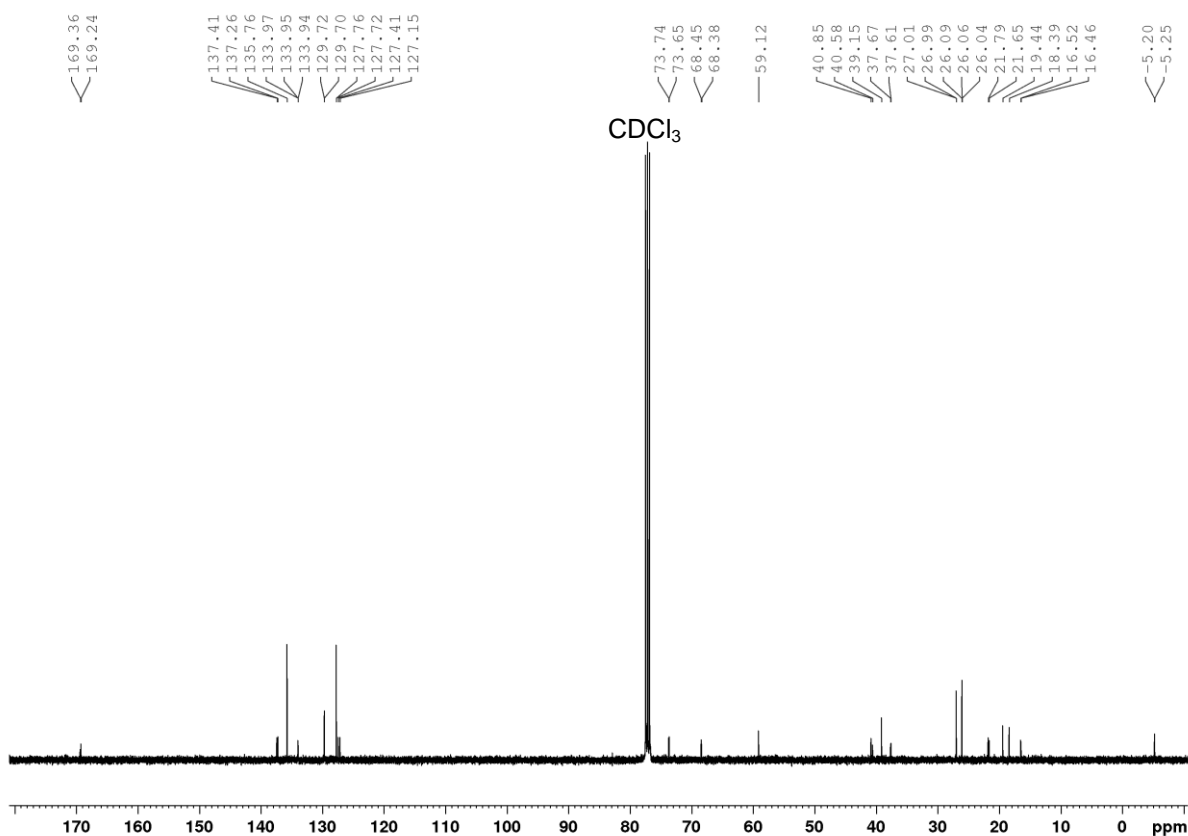


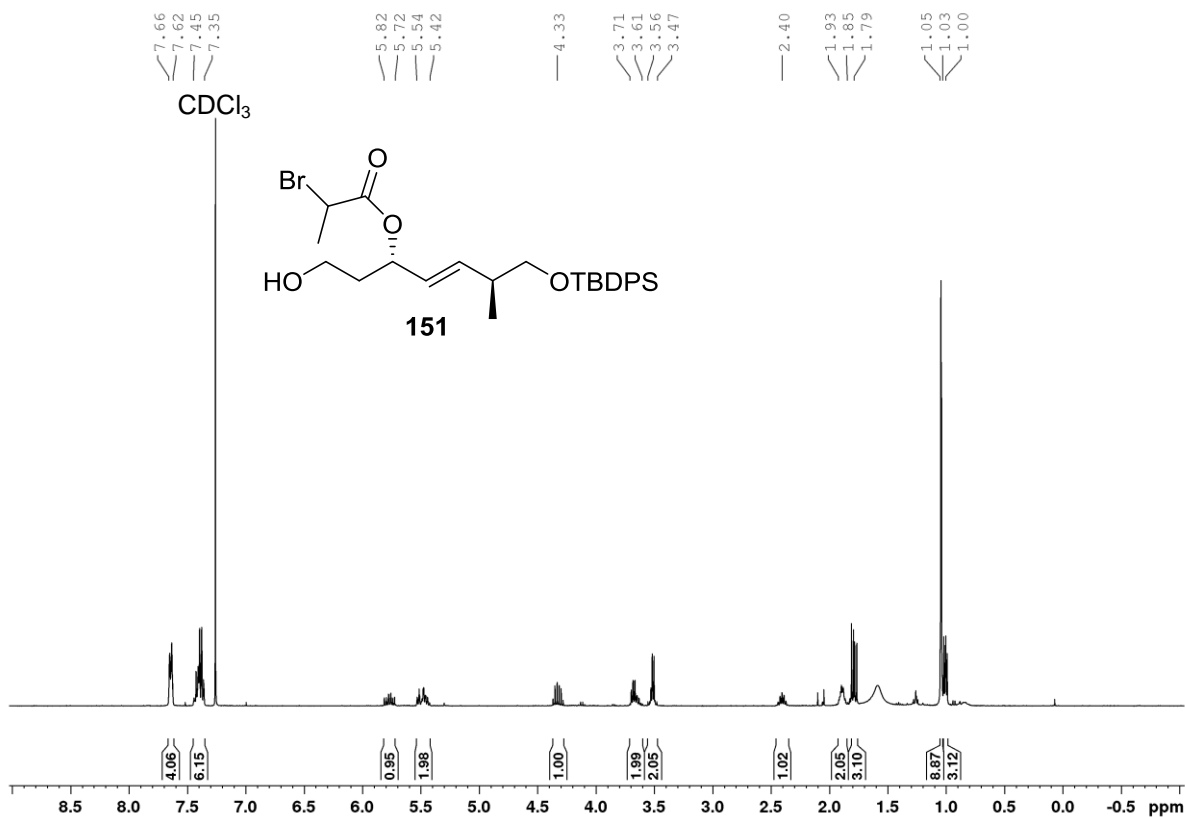
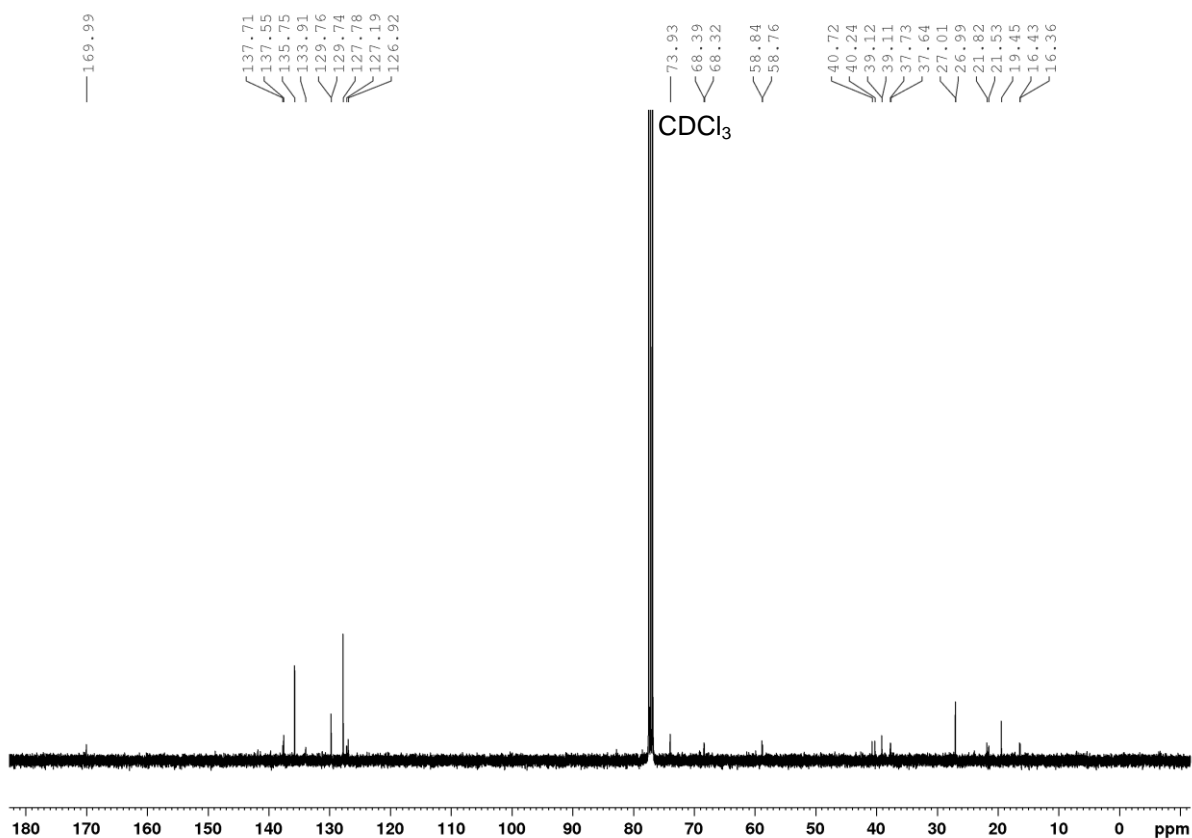
**(3*S*,6*S*,*E*)-1-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-6-methylhept-4-en-3-bromopropanoat (150)**

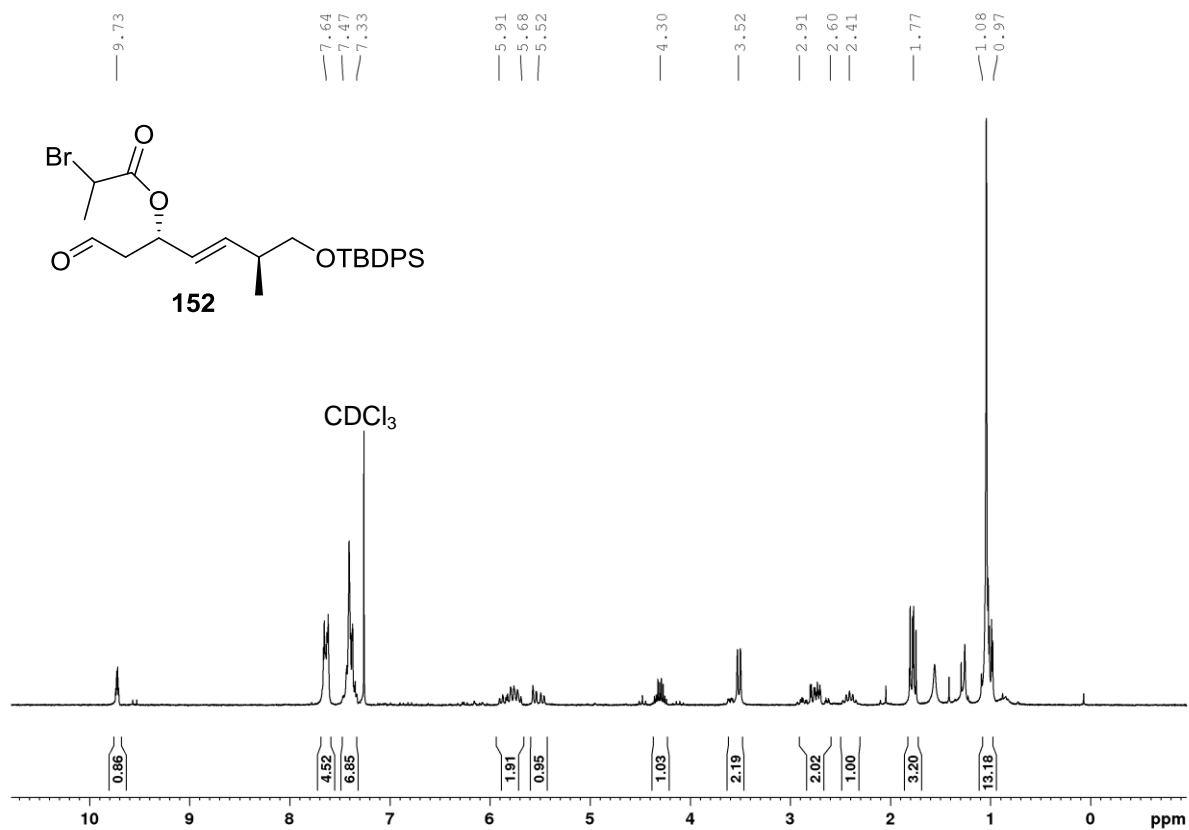
<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz



<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz



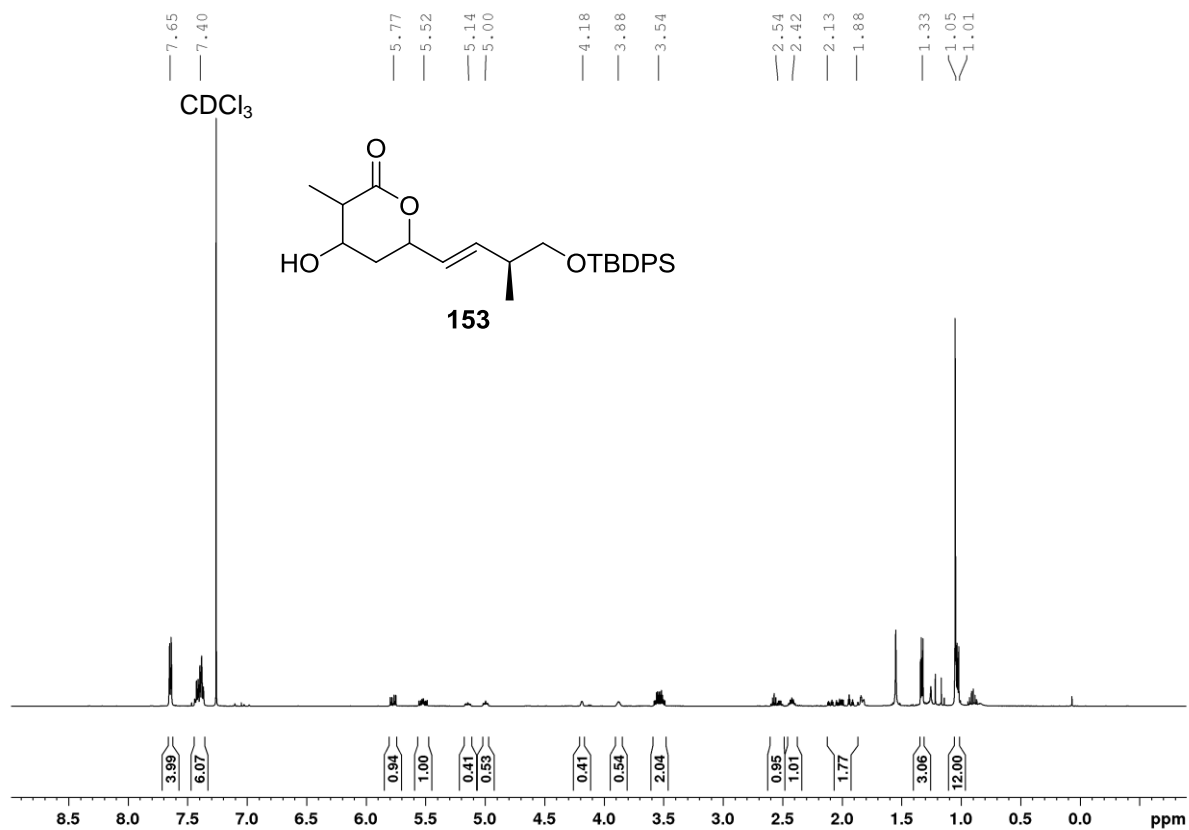
**(3*S*,6*S*,*E*)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-6-methylhept-4-en-1-ol-3-bromopropanoat (151)**<sup>1</sup>H-NMR 400 MHz<sup>13</sup>C-NMR 100 MHz

**(3*S*,6*S*,*E*)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-6-methylhept-4-en-1-on-3-****bromopropanoat (152)**<sup>1</sup>H-NMR 200 MHz

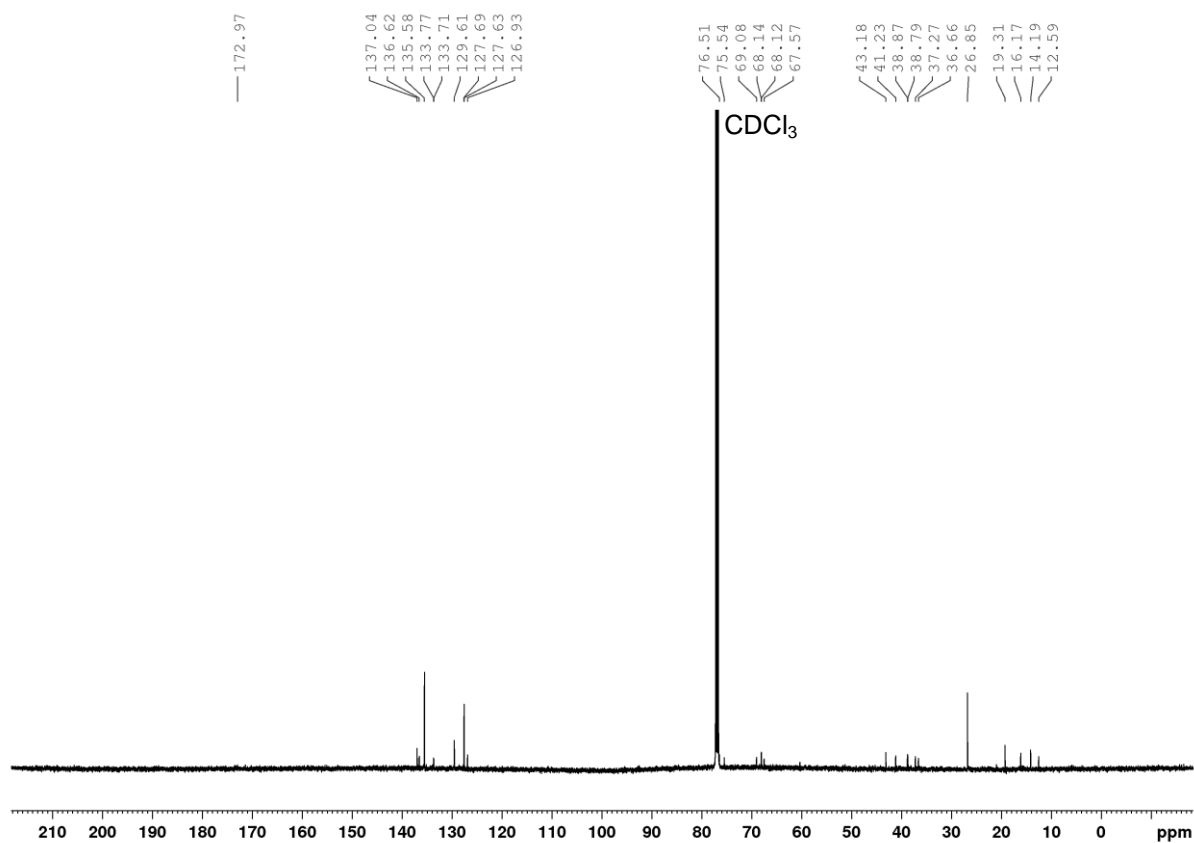


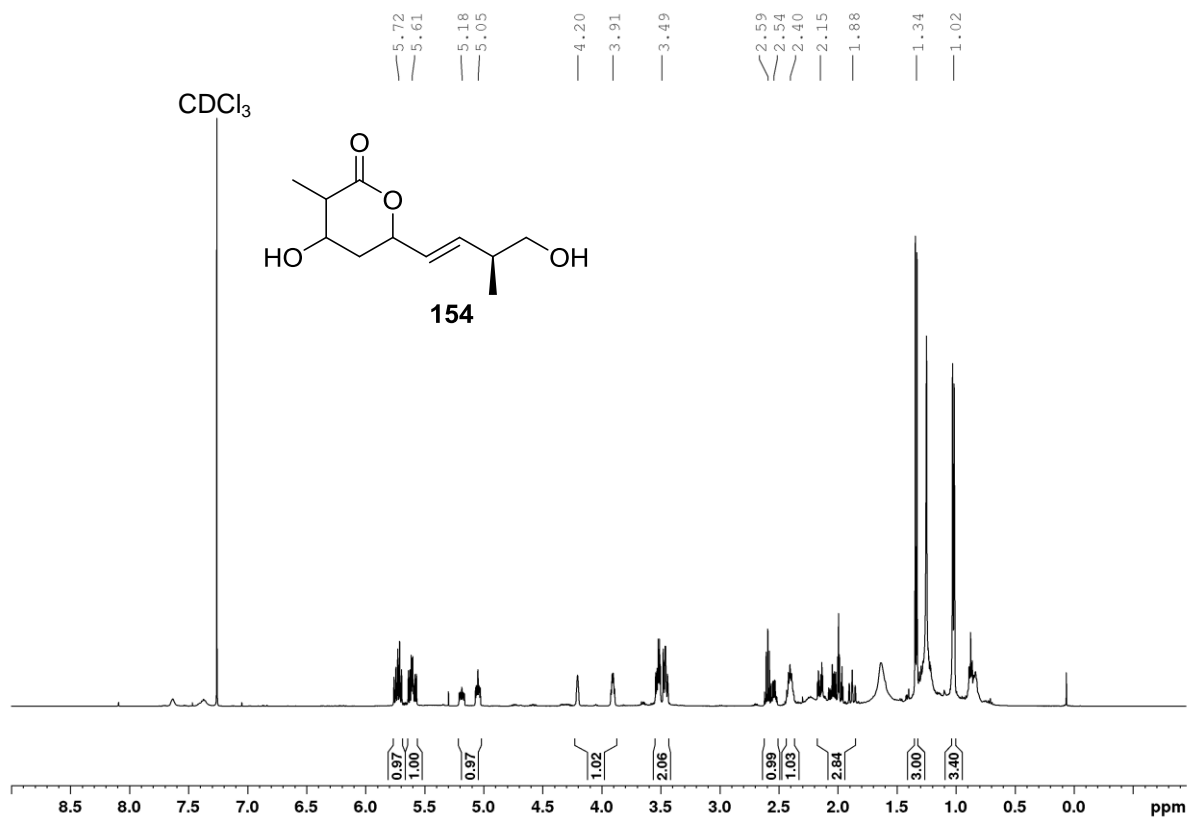
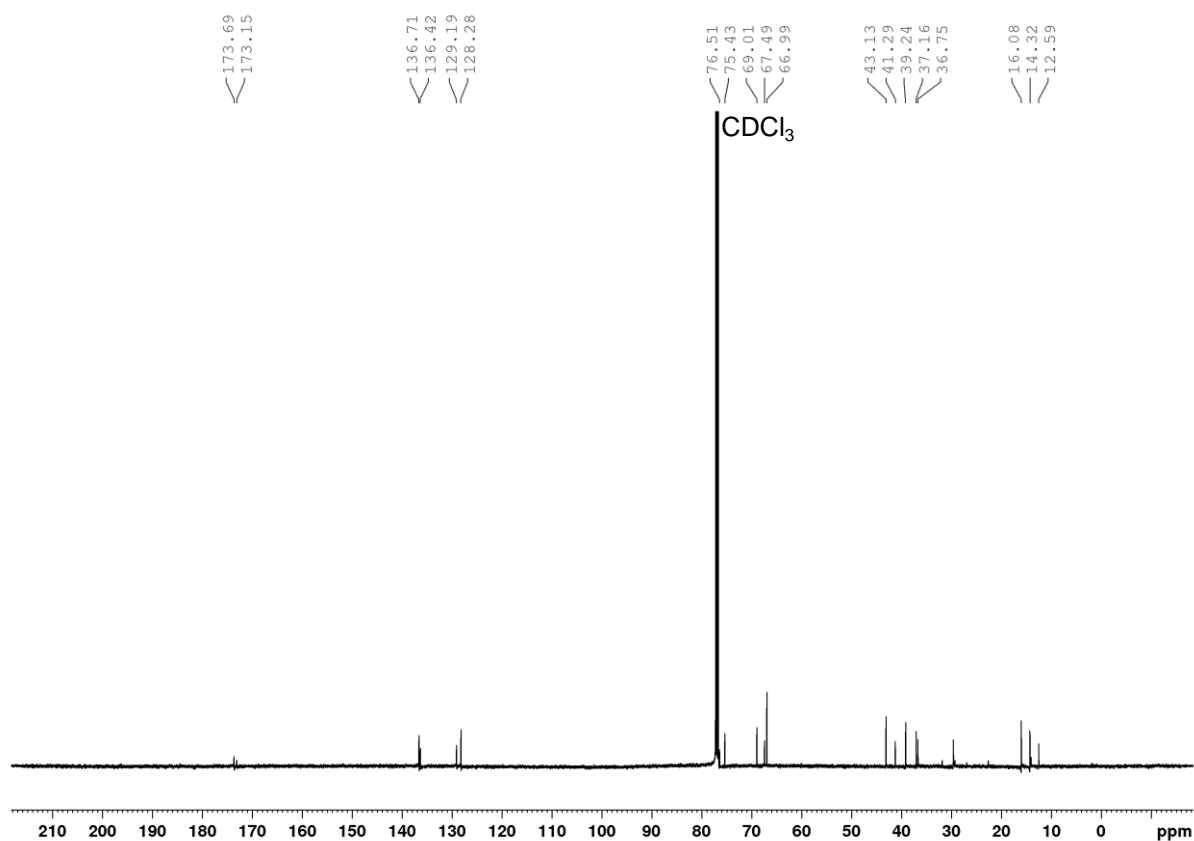
**6-((*S,E*)-4-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-3-methylbut-1-en-1-yl)-4-hydroxy-3-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-on (153)**

<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz



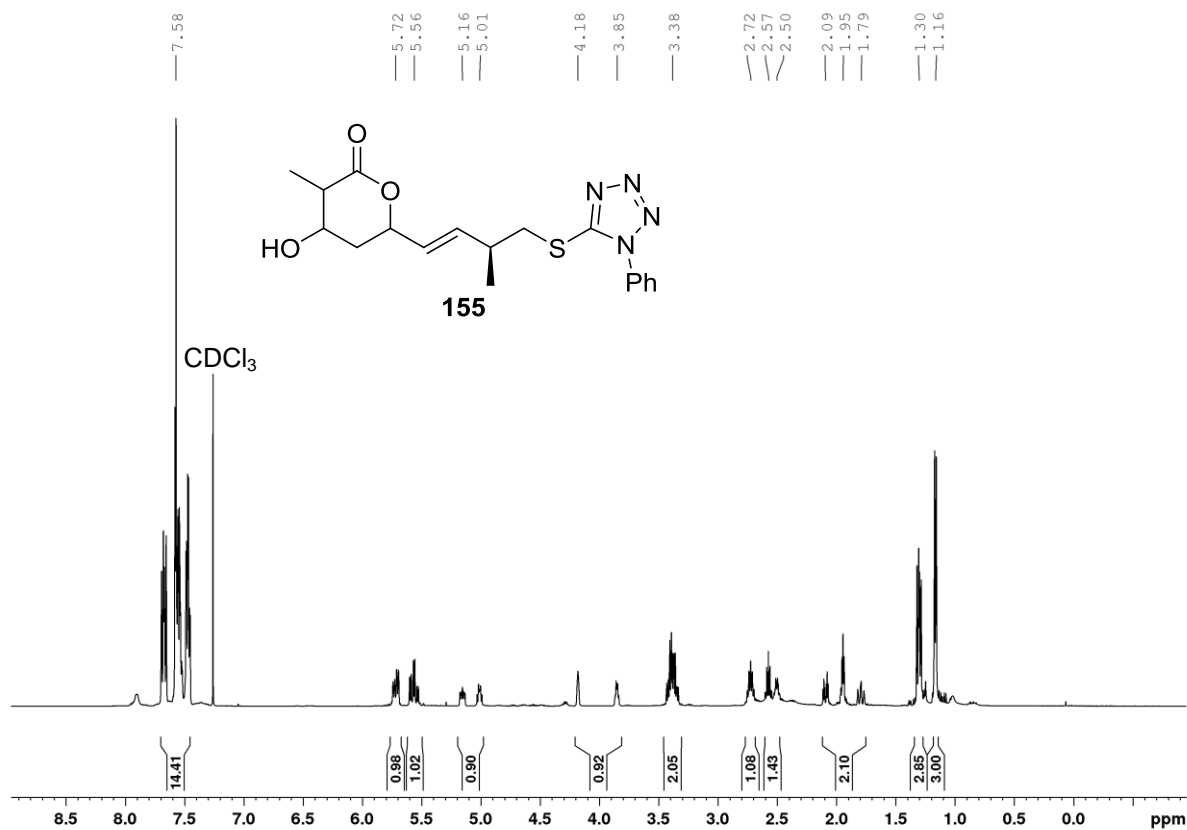
<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz



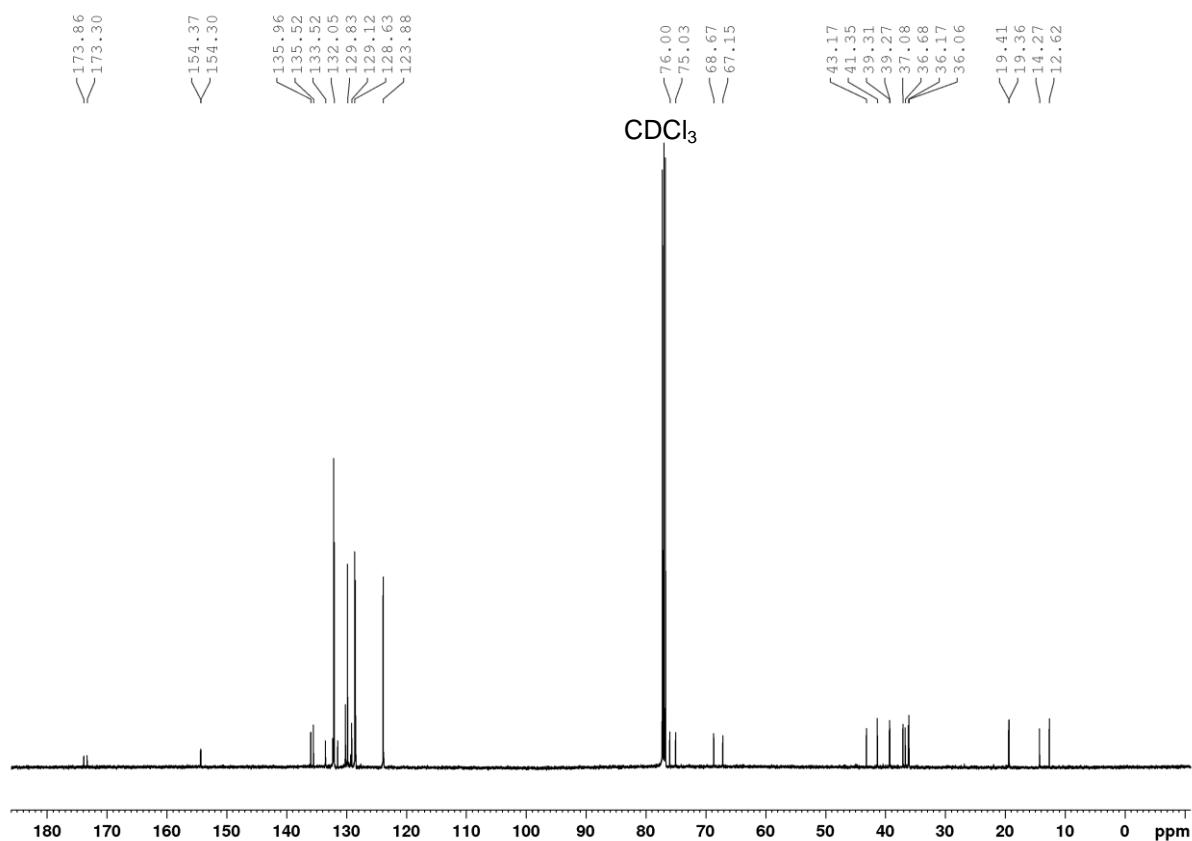
**4-Hydroxy-6-((*S,E*)-4-hydroxy-3-methylbut-1-en-1-yl)-3-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-on (154)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**4-Hydroxy-3-methyl-6-((*S,E*)-3-methyl-4-((phenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)thio)but-1-en-1-yl)tetrahydro-2*H*-pyran-2-on (155)**

<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

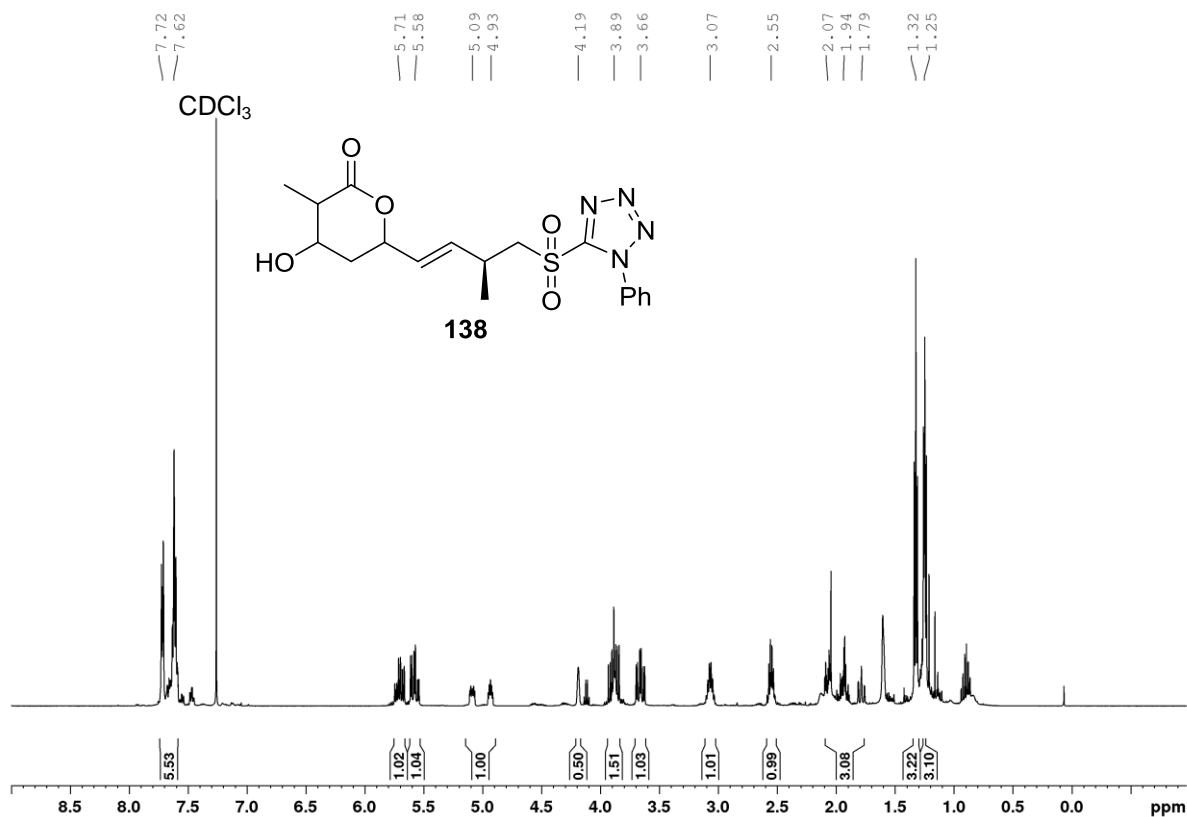


<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

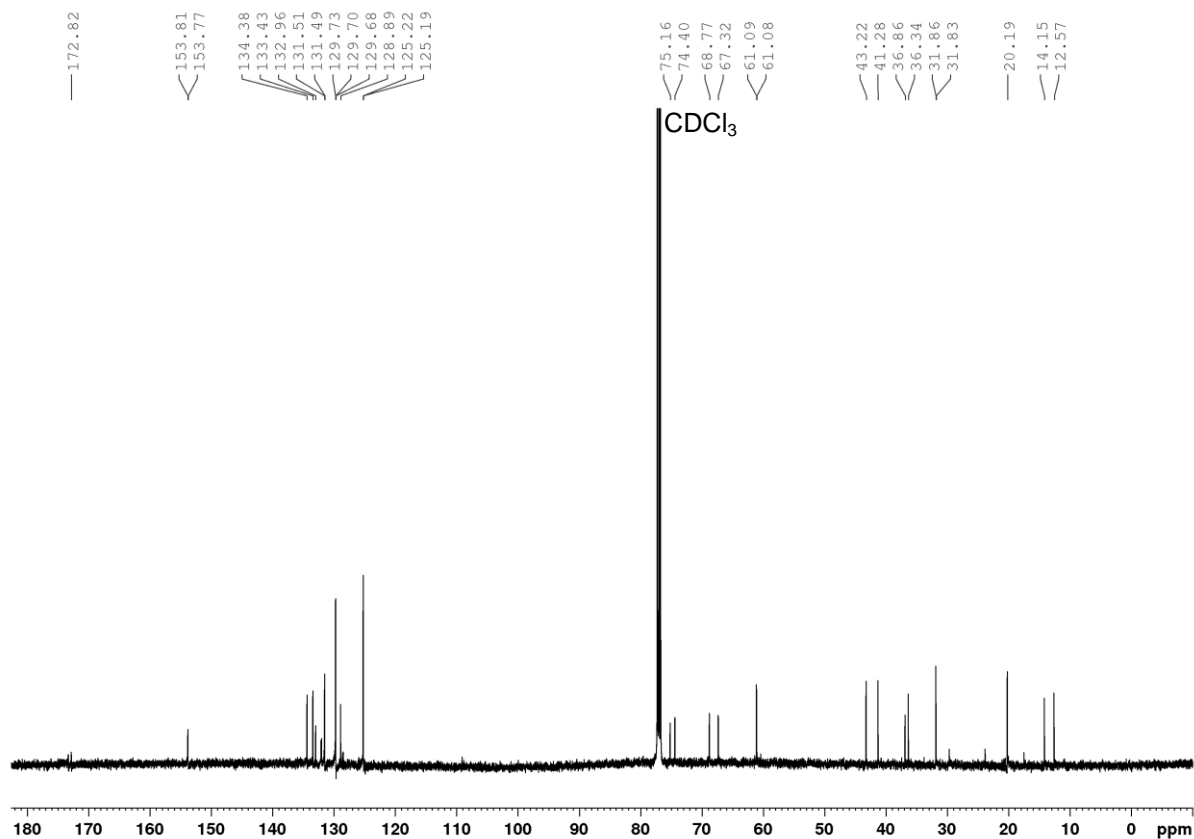


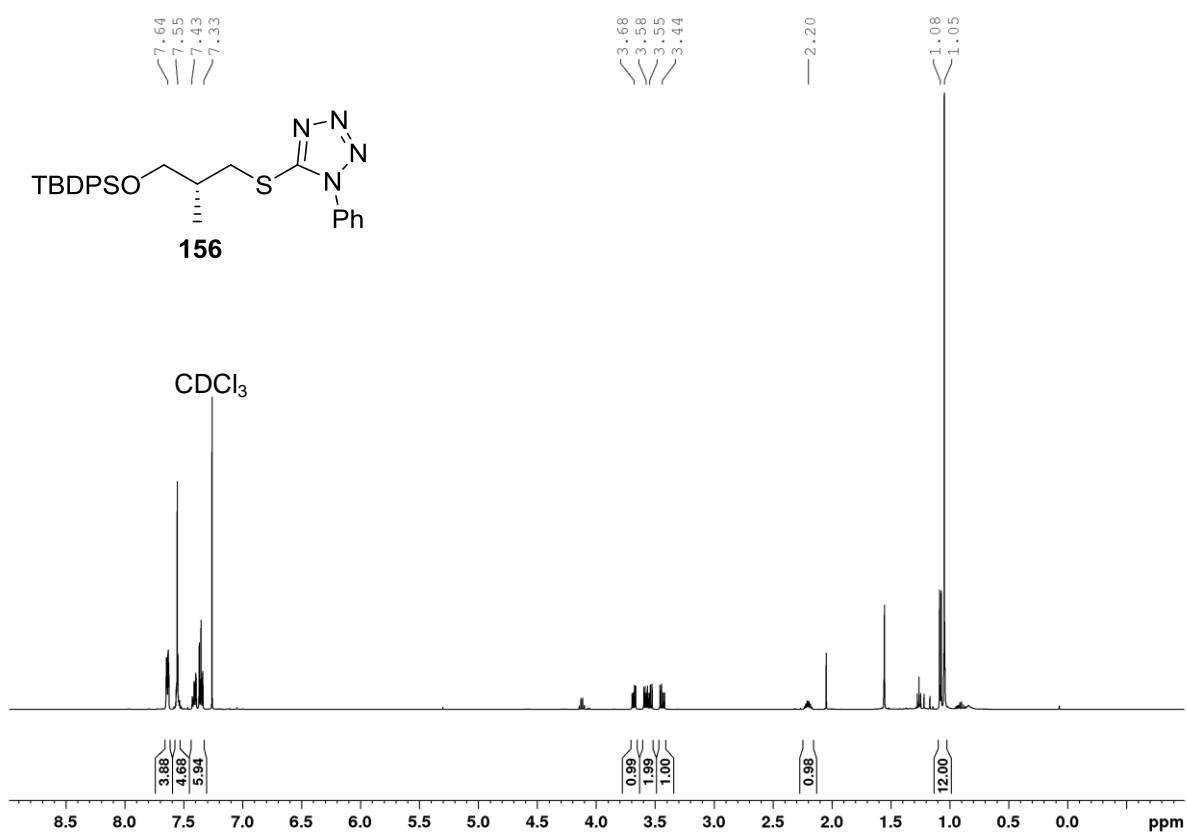
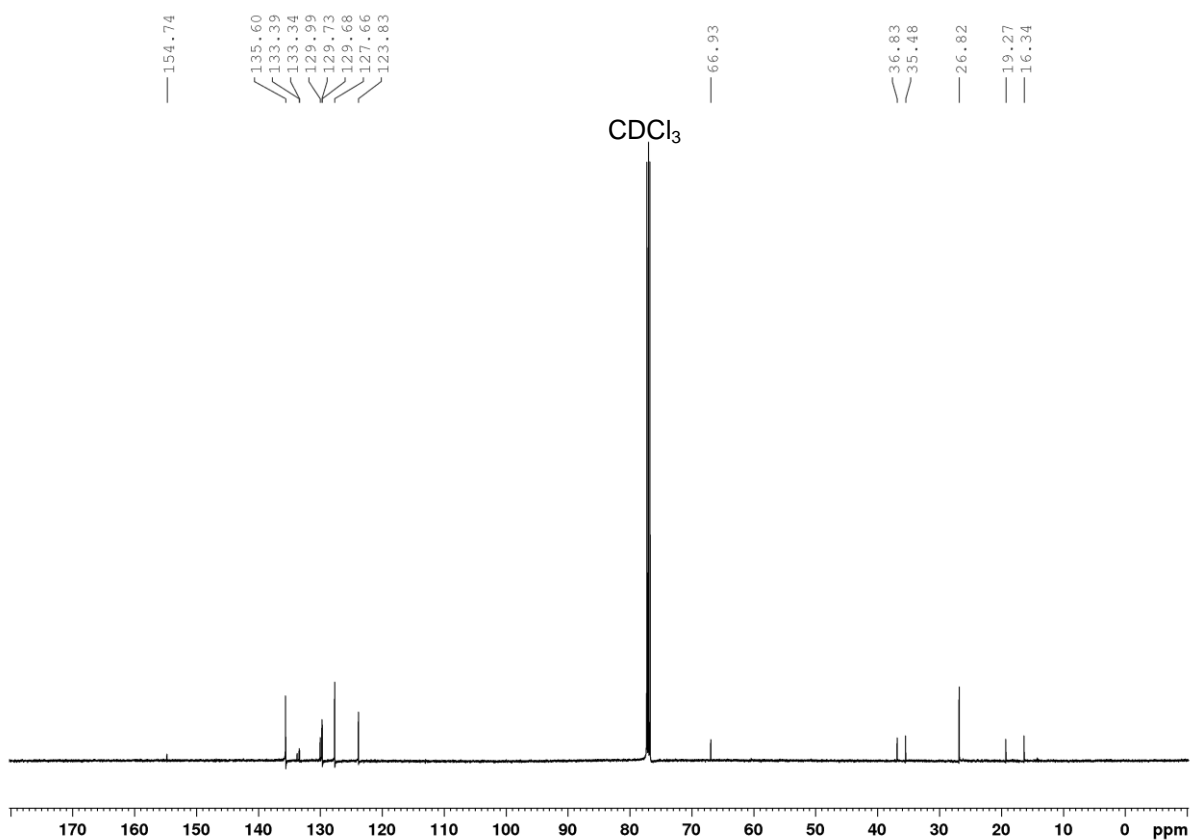
**4-Hydroxy-3-methyl-6-((*S,E*)-3-methyl-4-((phenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulfonyl)but-1-en-1-yl)tetrahydro-2*H*-pyran-2-on (138)**

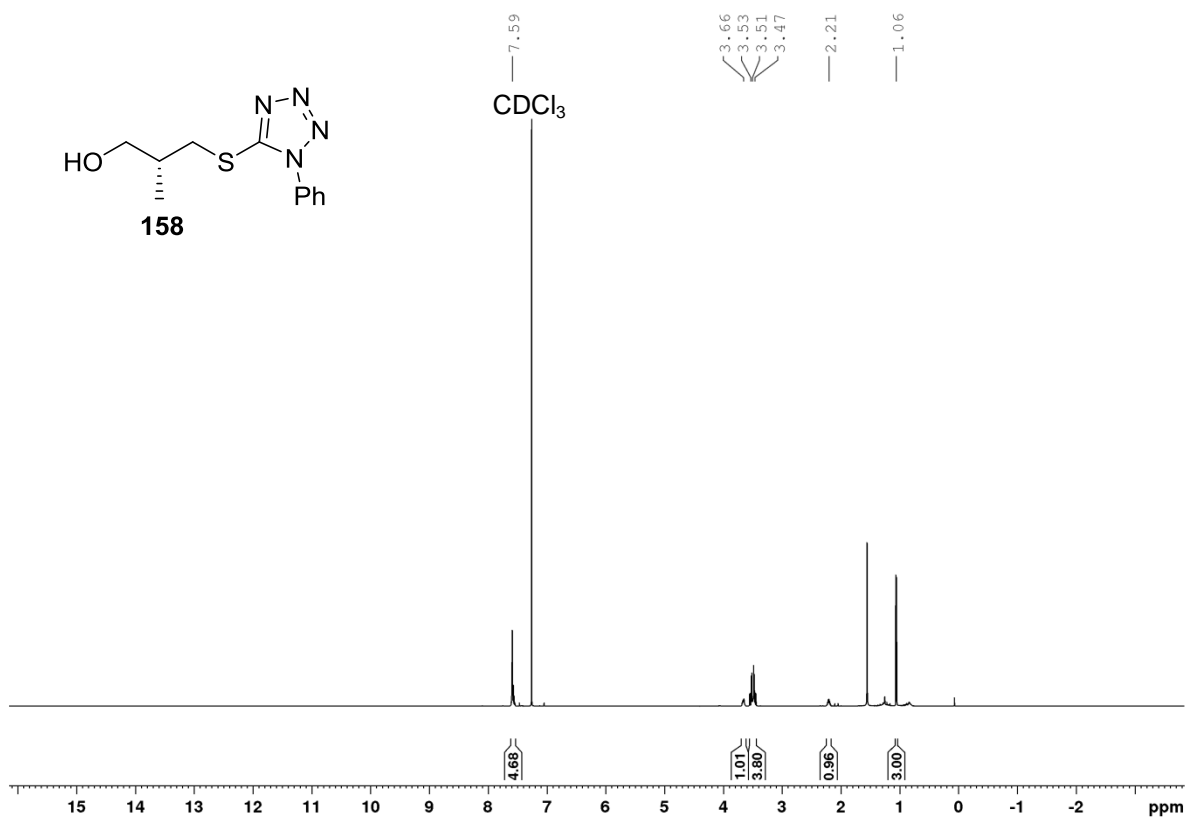
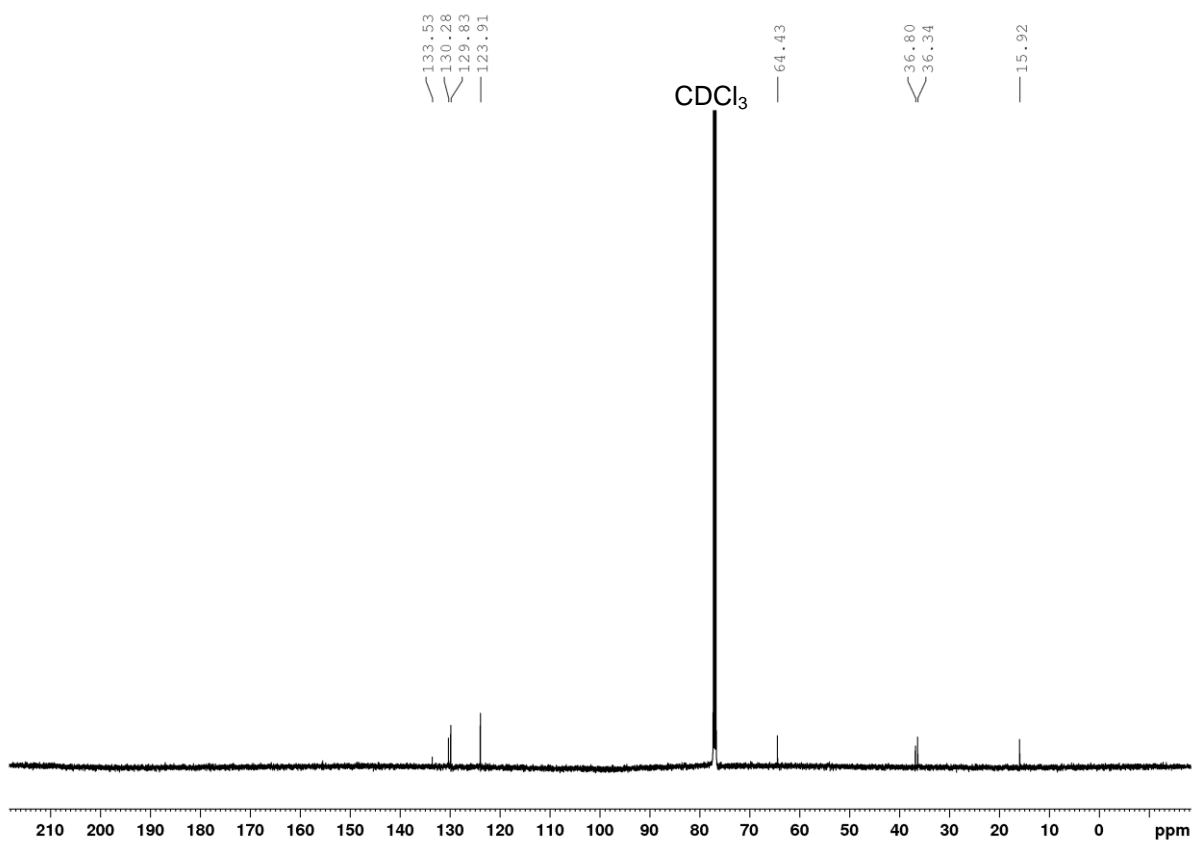
<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

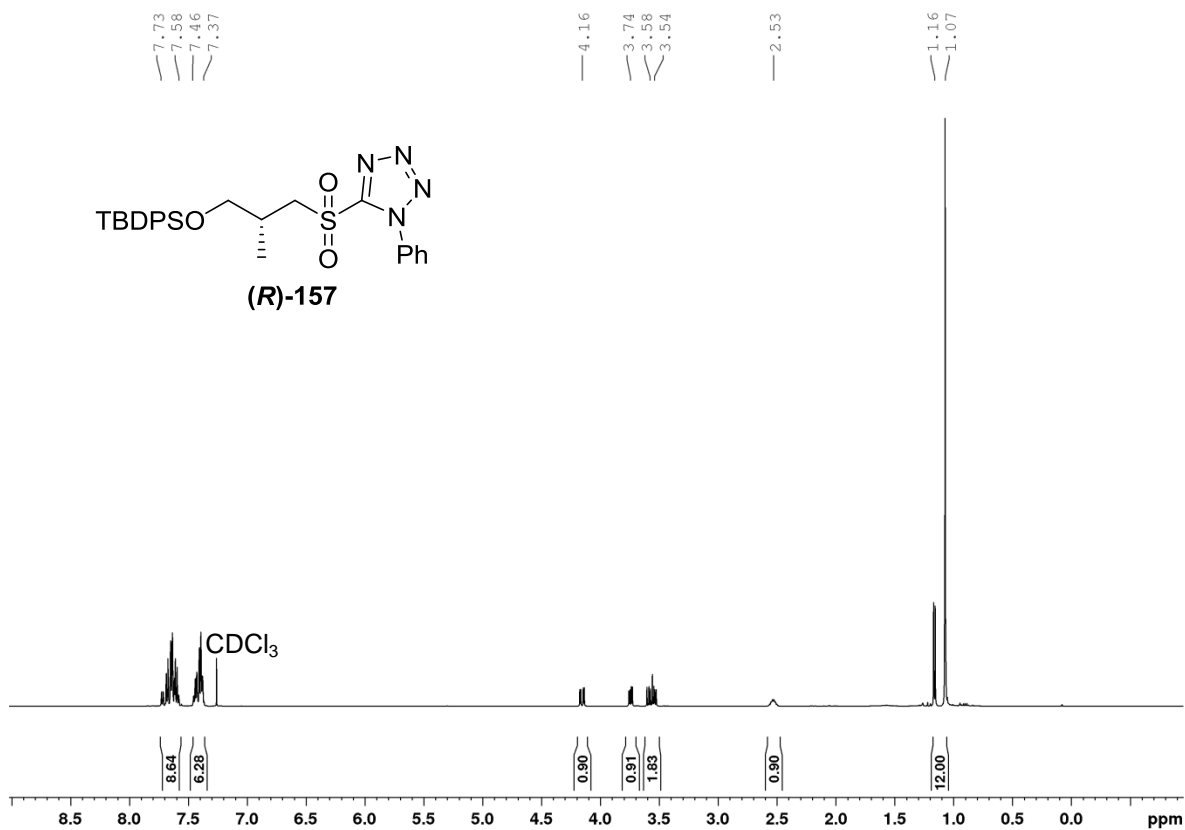
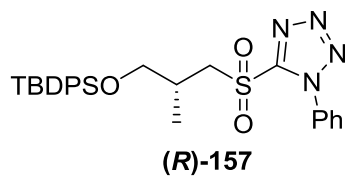
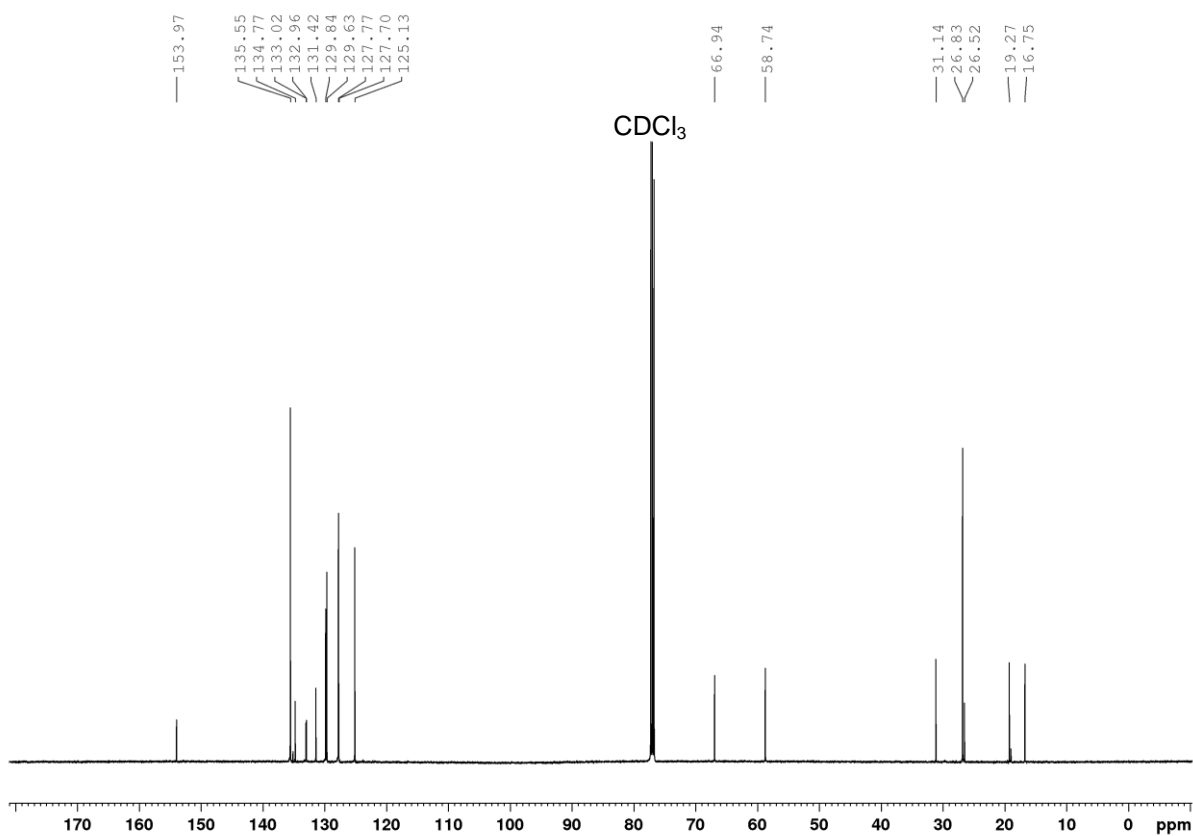


<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz



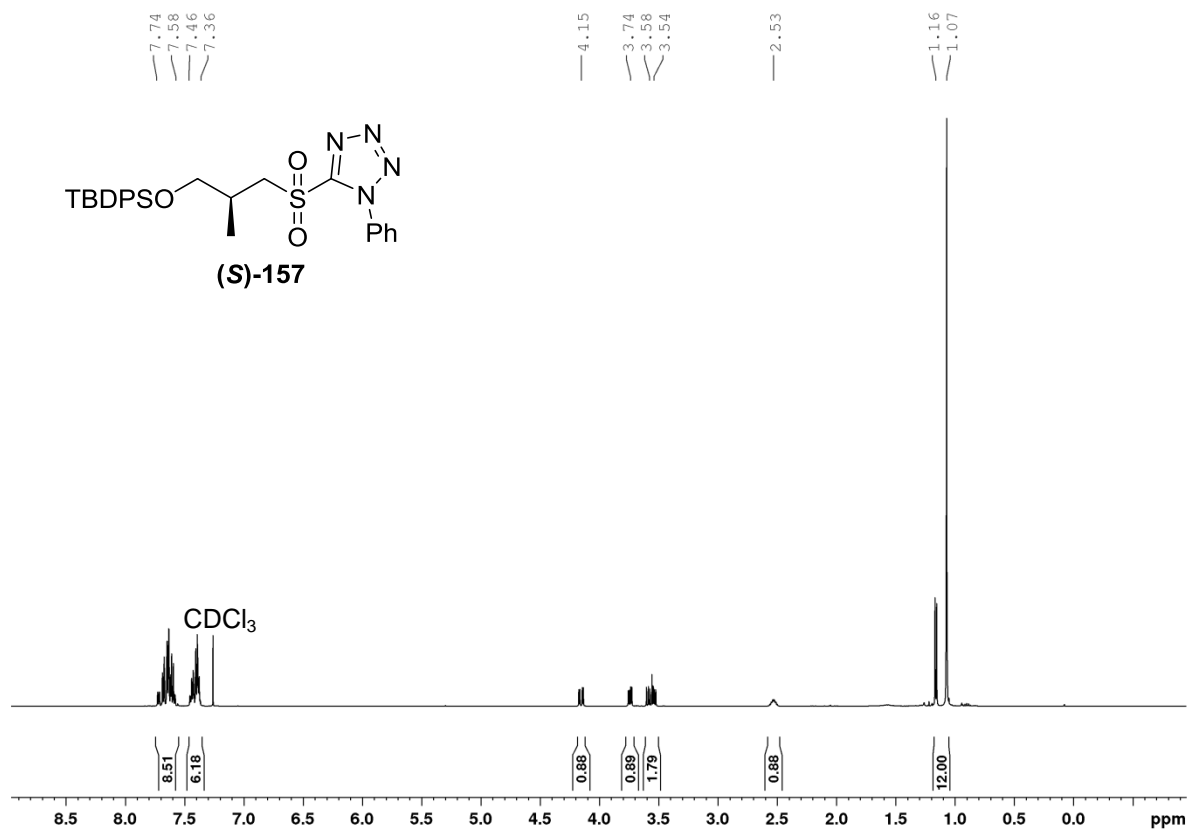
**(R)-5-((3-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-2-methylpropyl)thio)-1-phenyl-1*H*-tetrazol (156)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(R)-2-methyl-3-((1-phenyl-1H-tetrazol-5-yl)thio)propan-1-ol (158)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

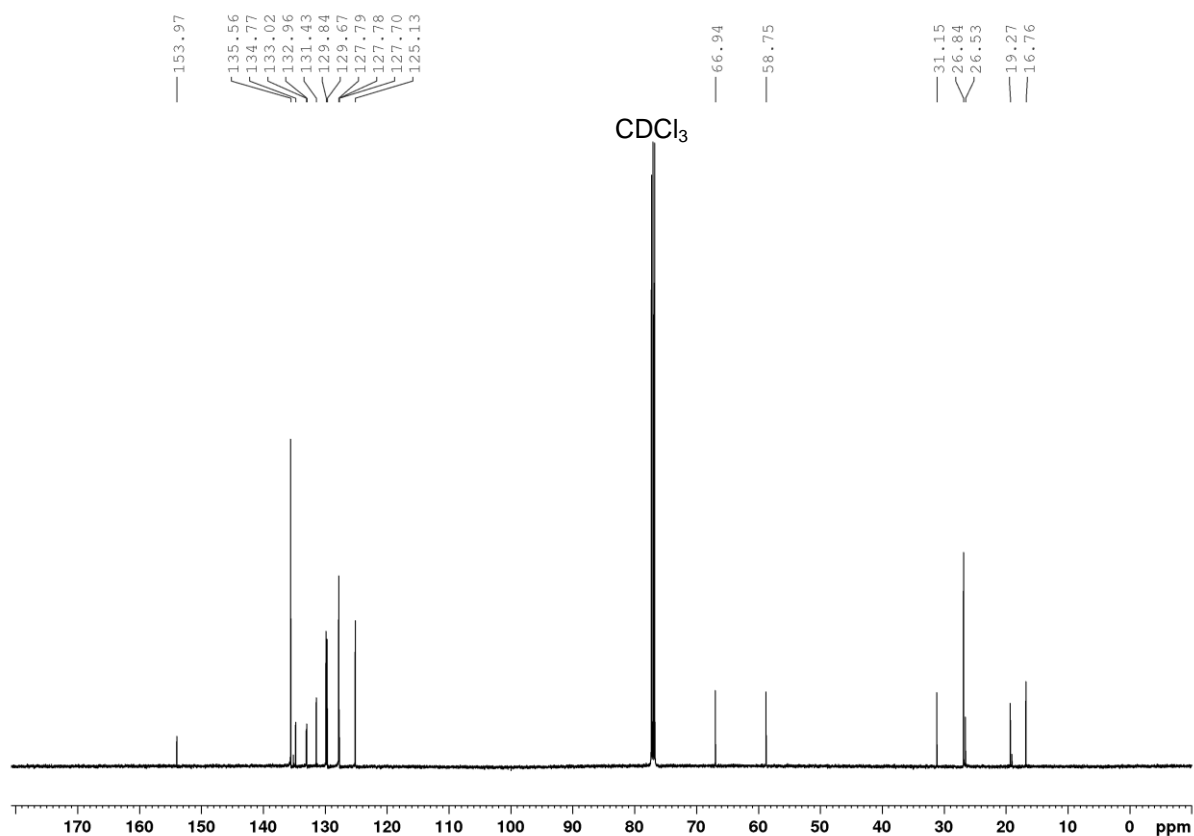
<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(S)-5-((3-*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-2-methylpropylsulfonyl)-phenyl-1*H*-tetrazol ((S)-157)**

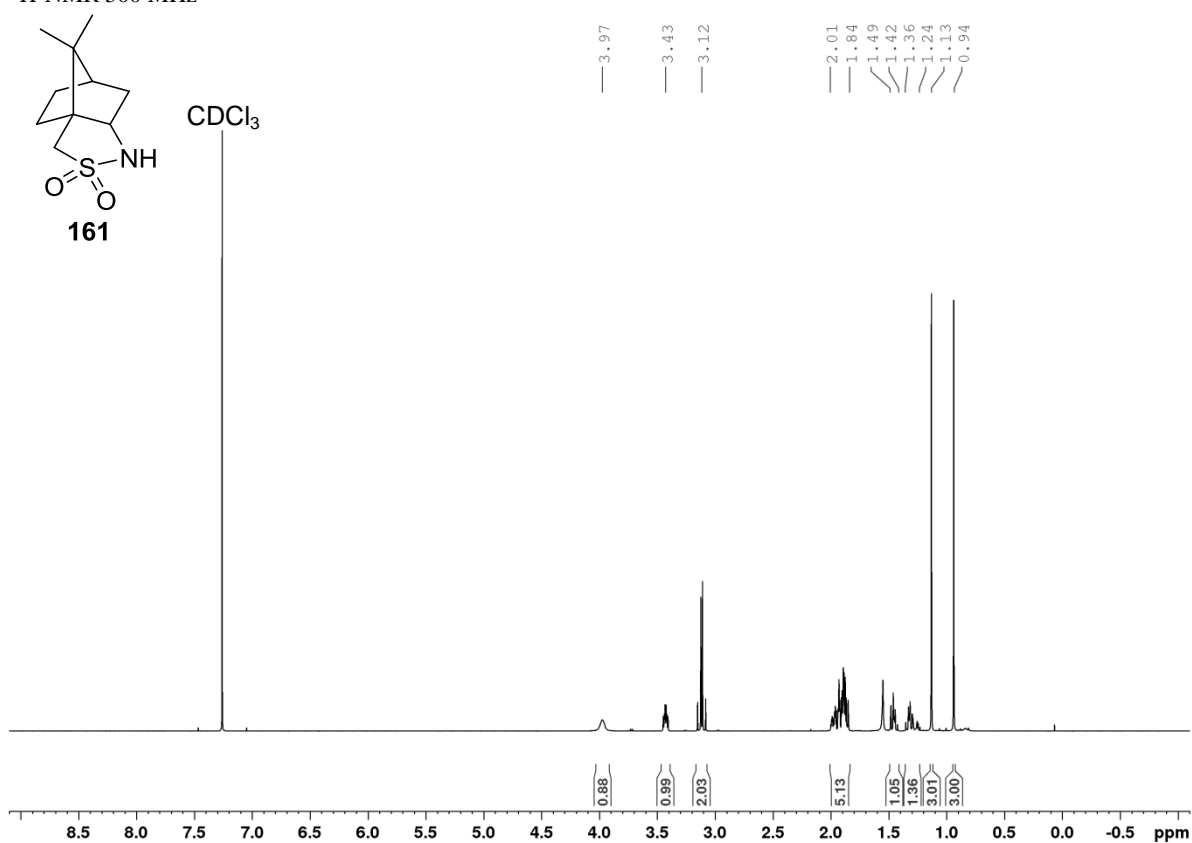
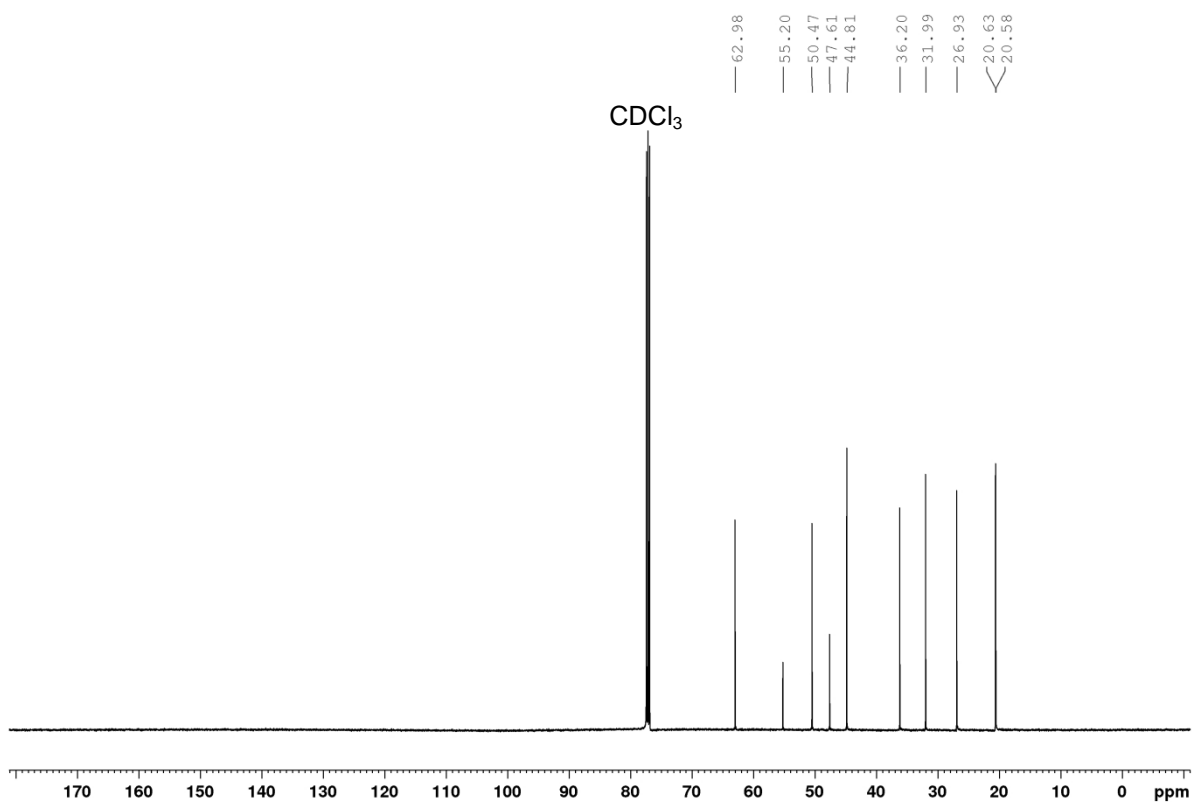
<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz



<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

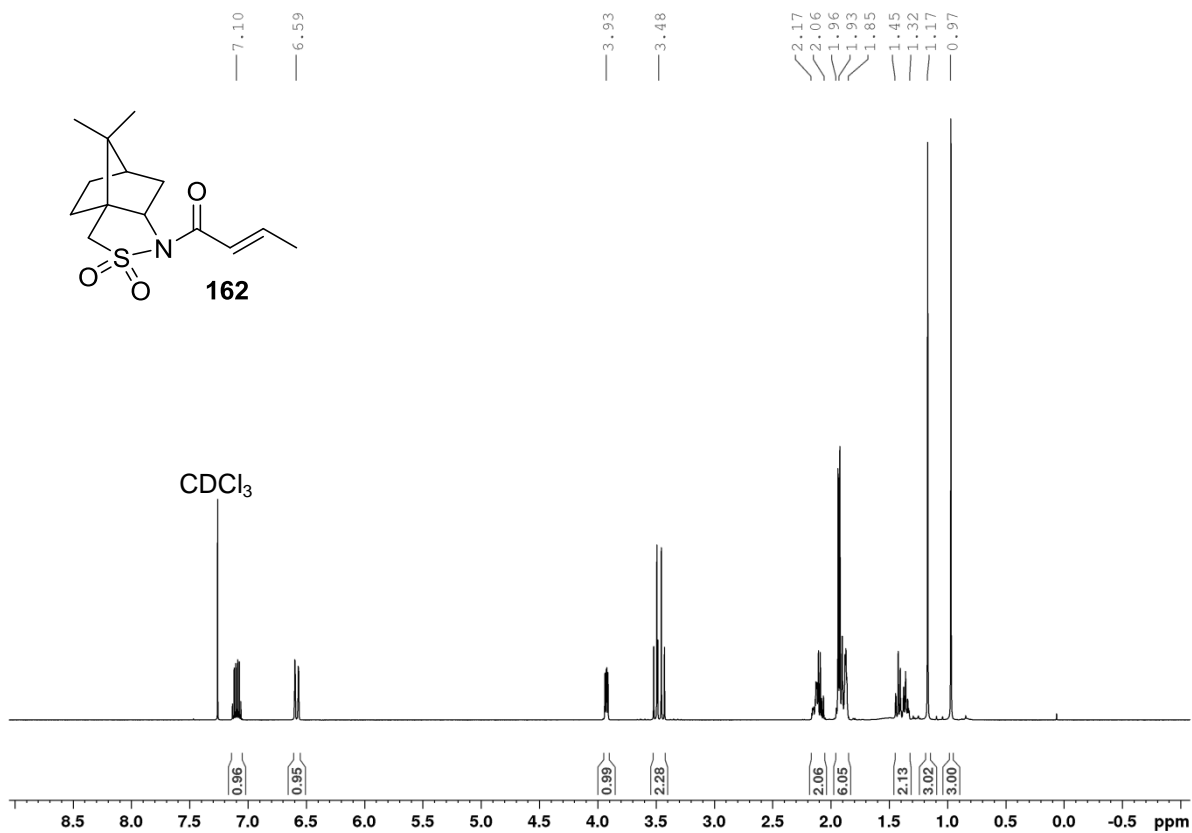




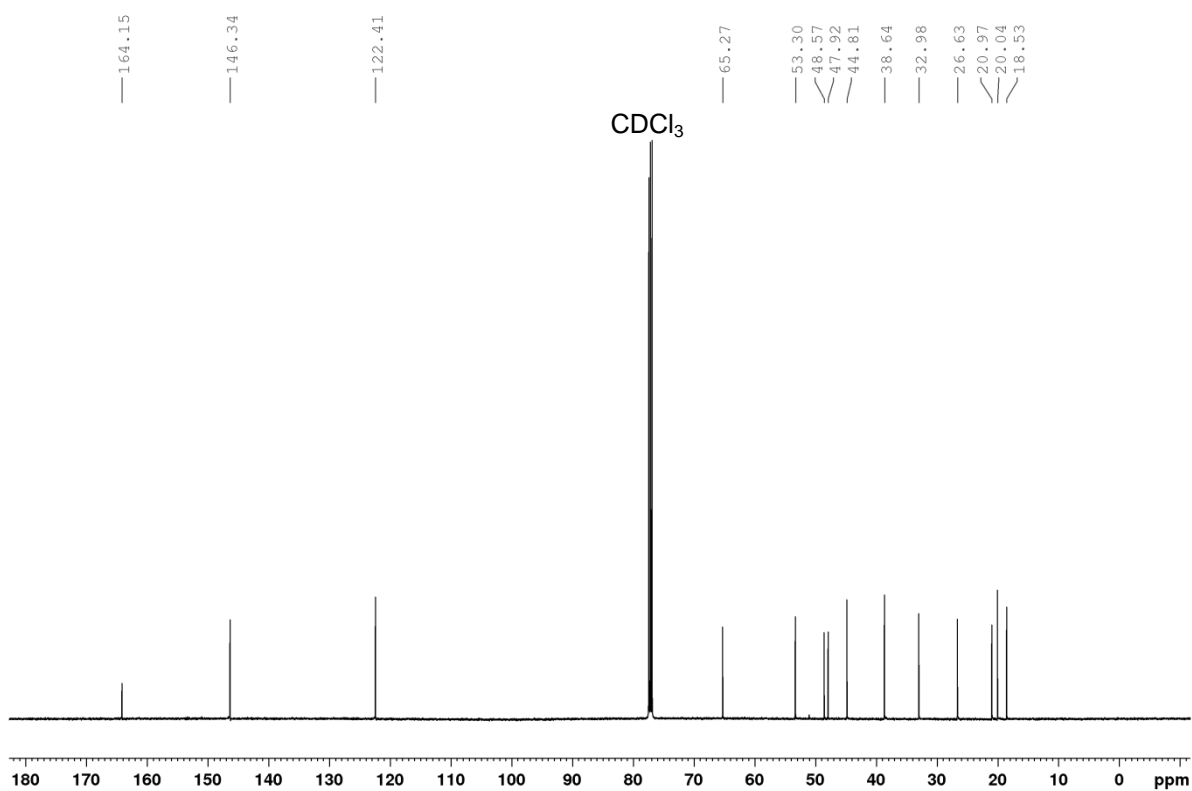
**(6R)-Camphorsultam (161)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

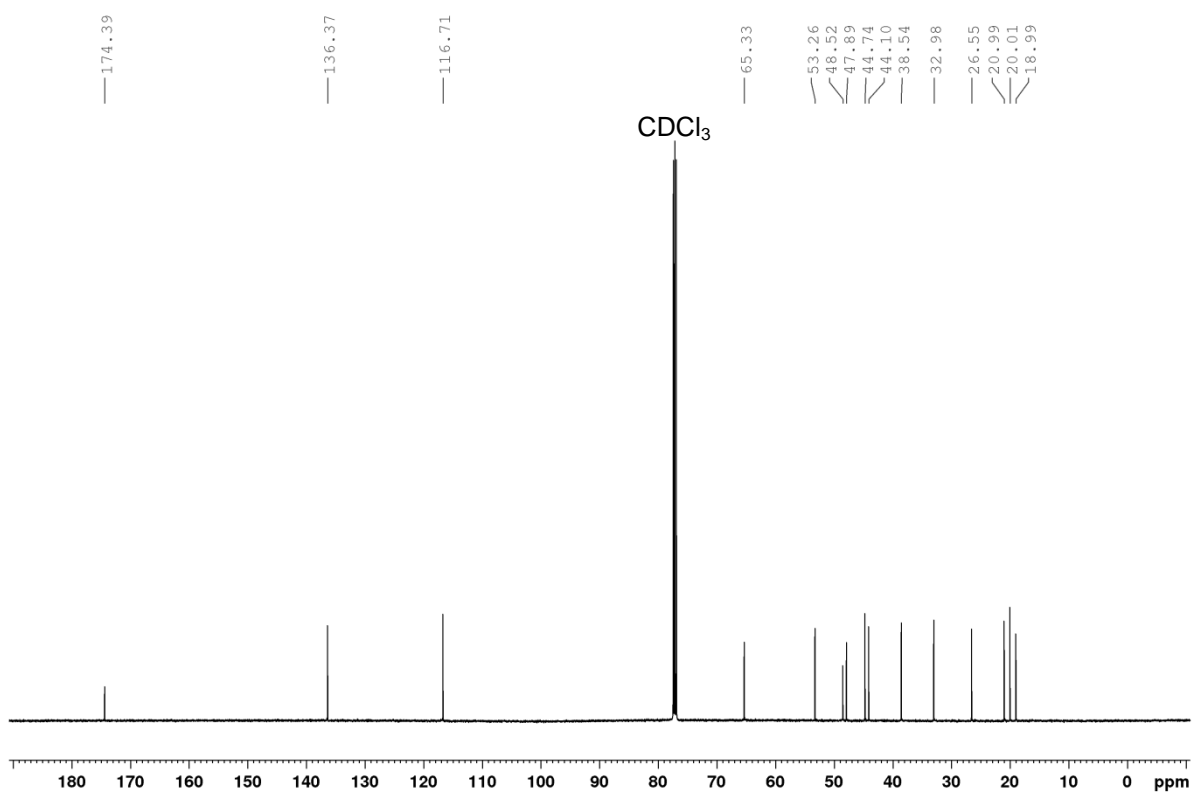
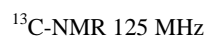
**(E)-1-((3a*R*,6*R*)-8,8-Dimethyl-2,2-dioxidotetrahydro-3*H*-3a,6-methanobenzo[*c*]isothiazol-1(4*H*)-yl)but-2-en-1-on (162)**

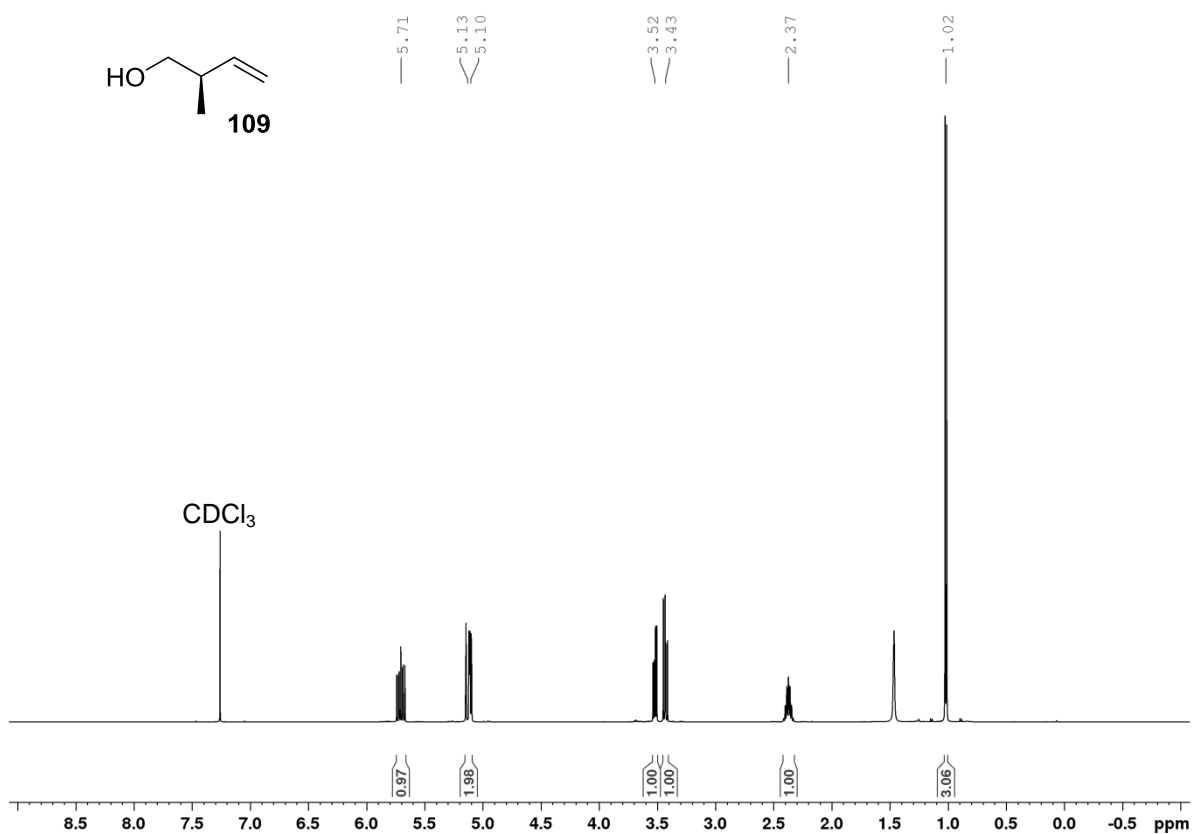
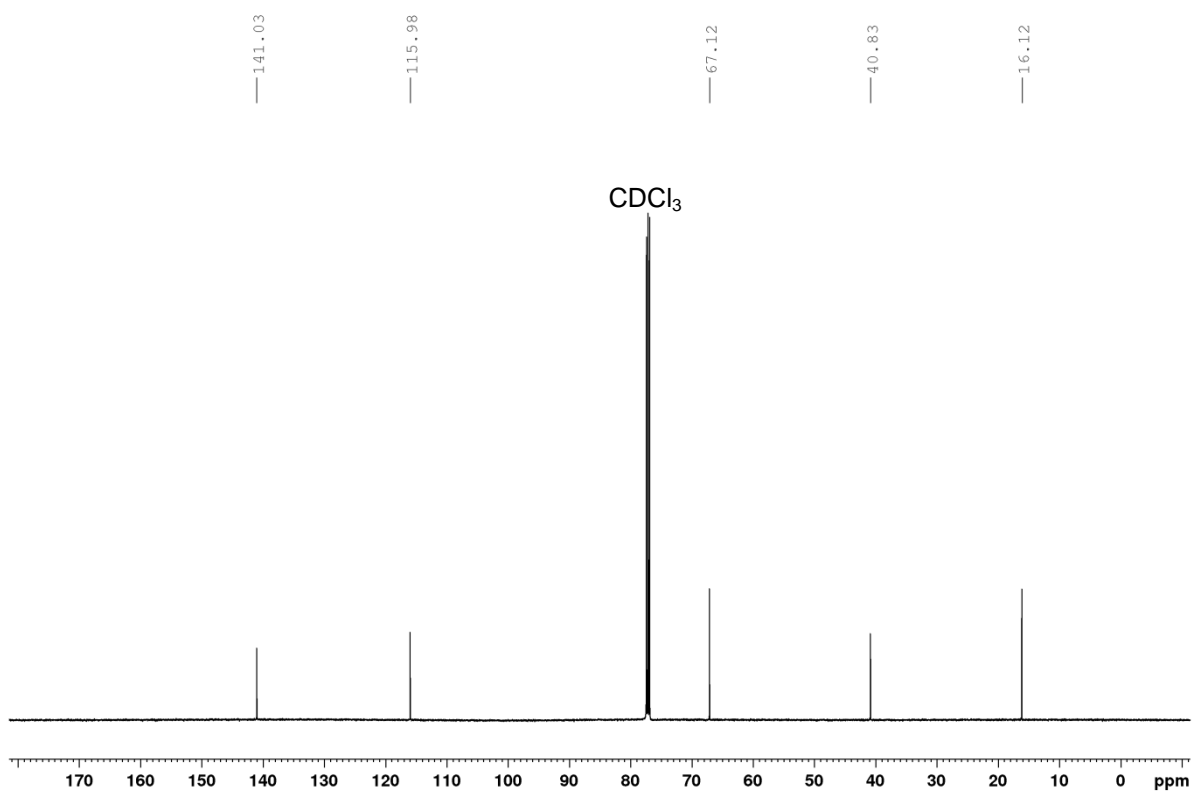
<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

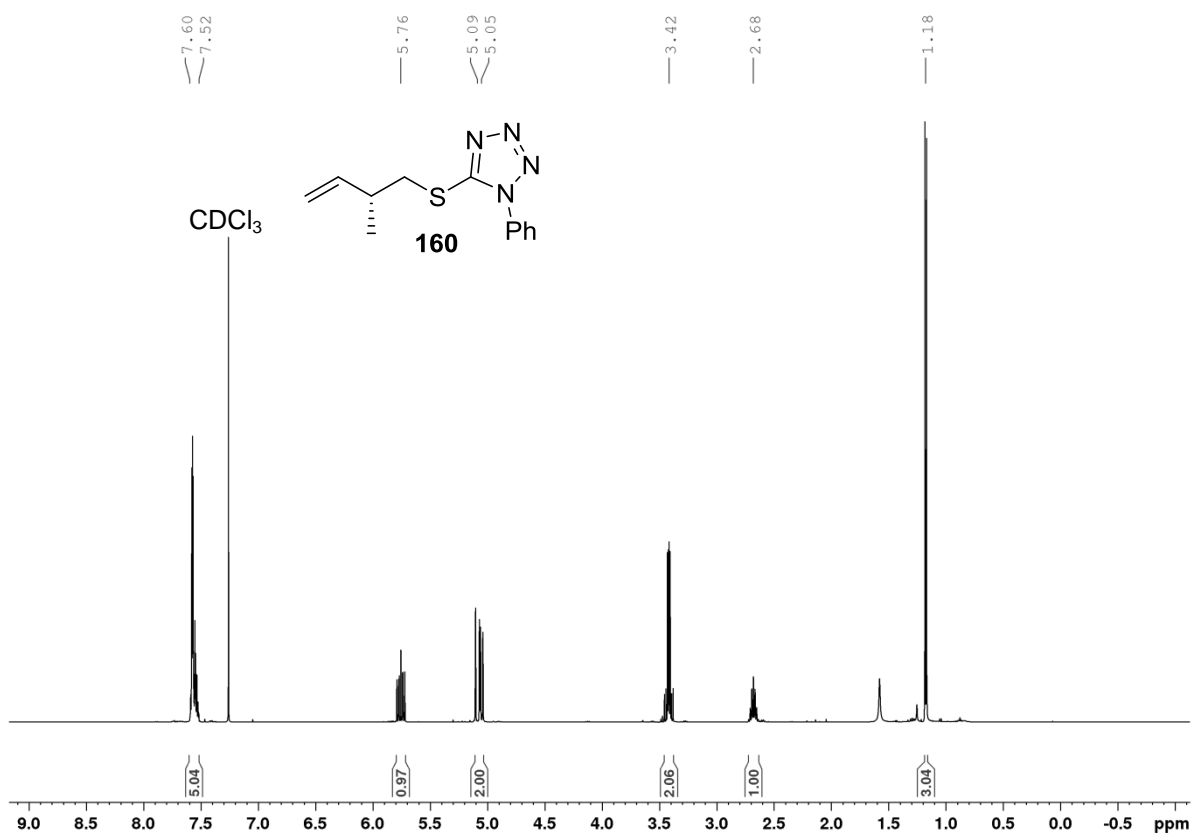
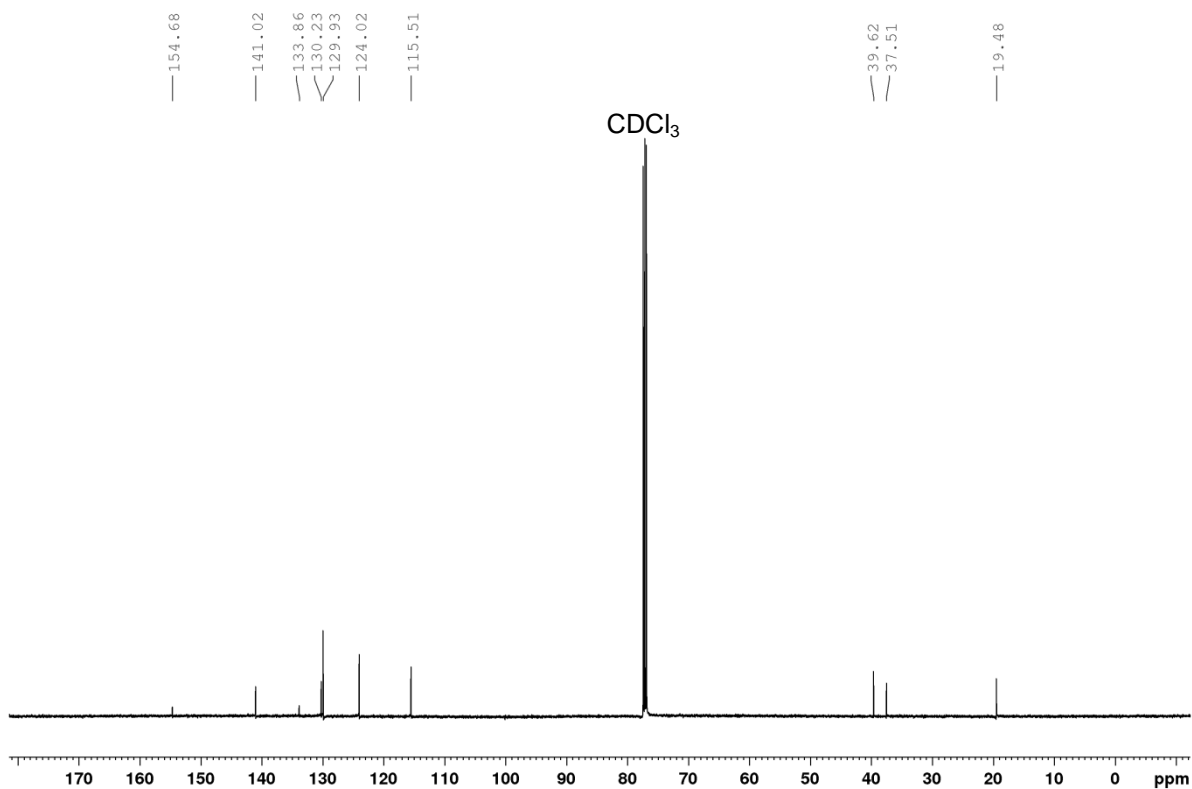


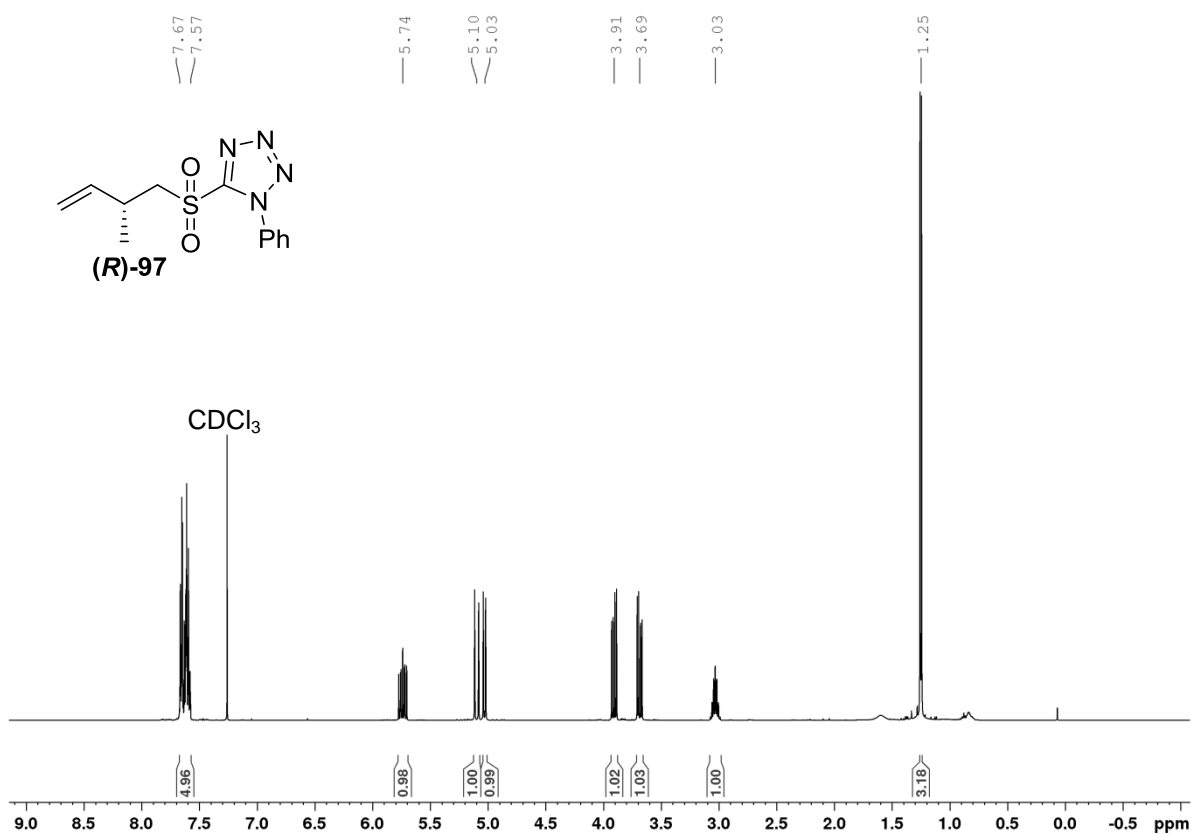
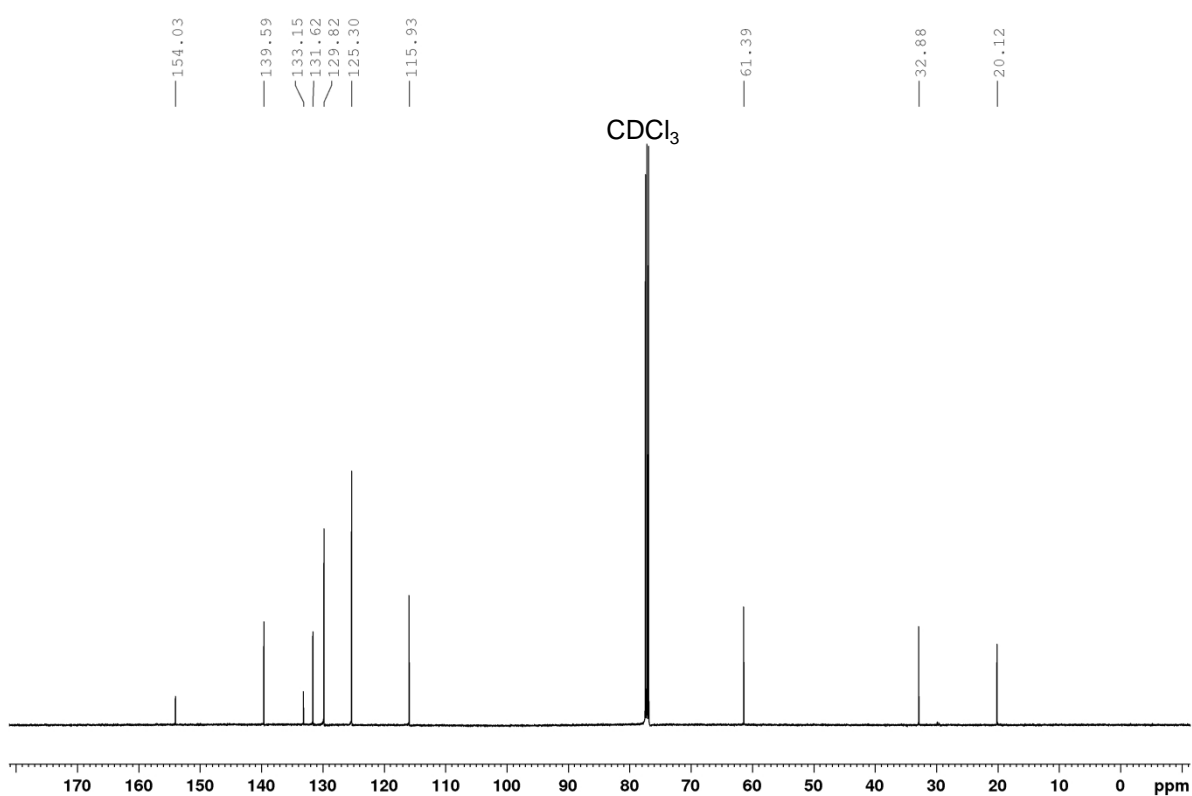
<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

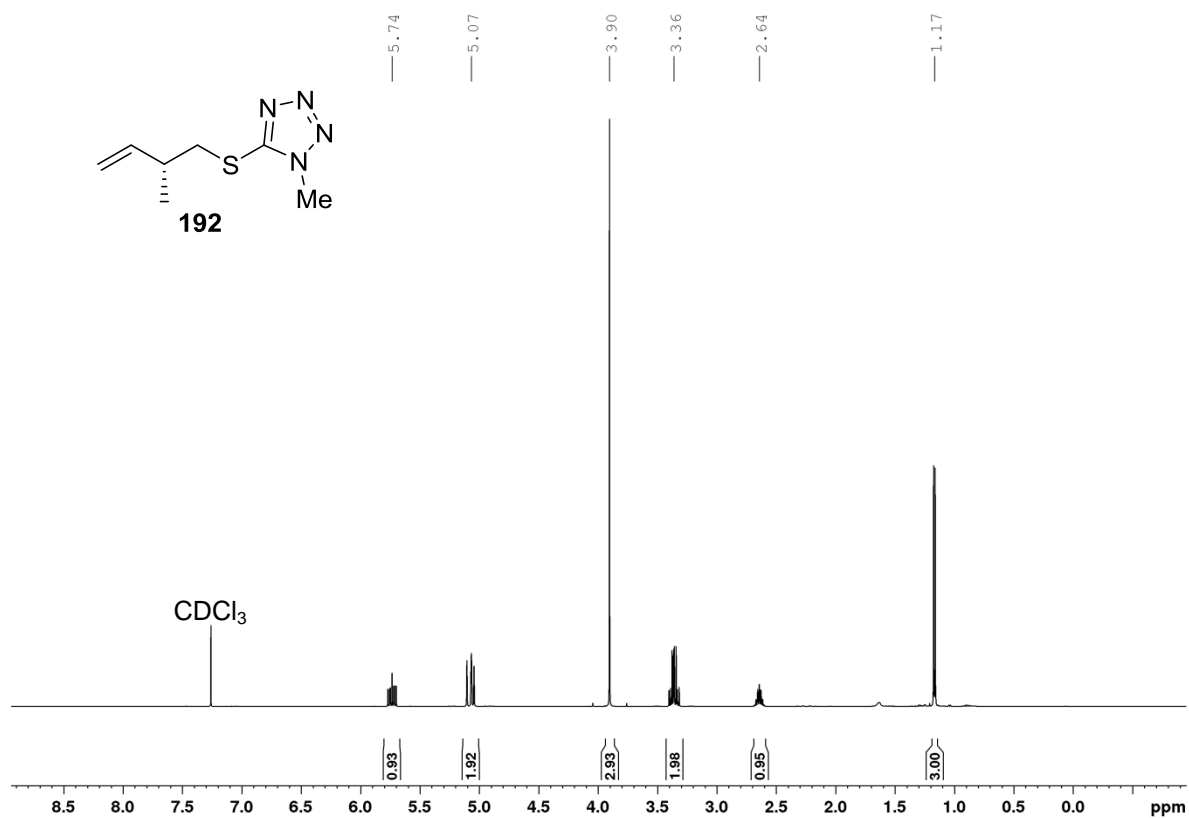
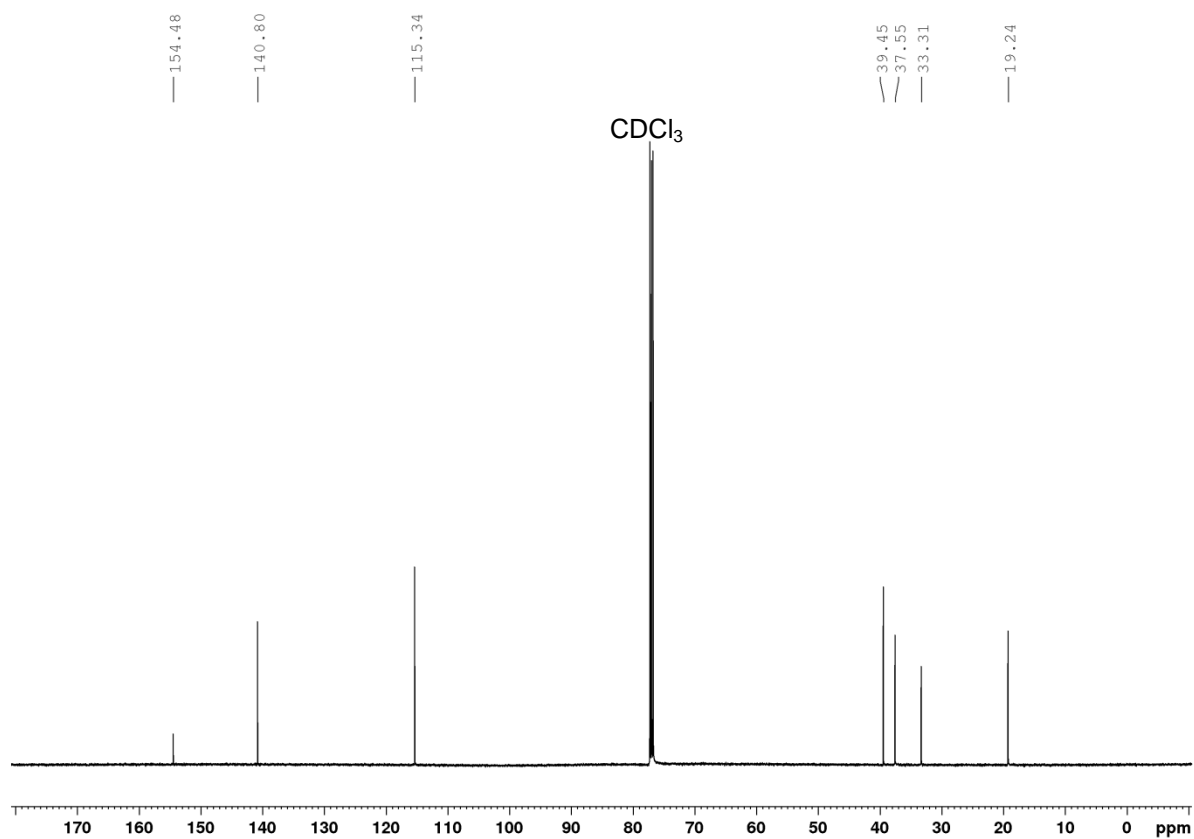


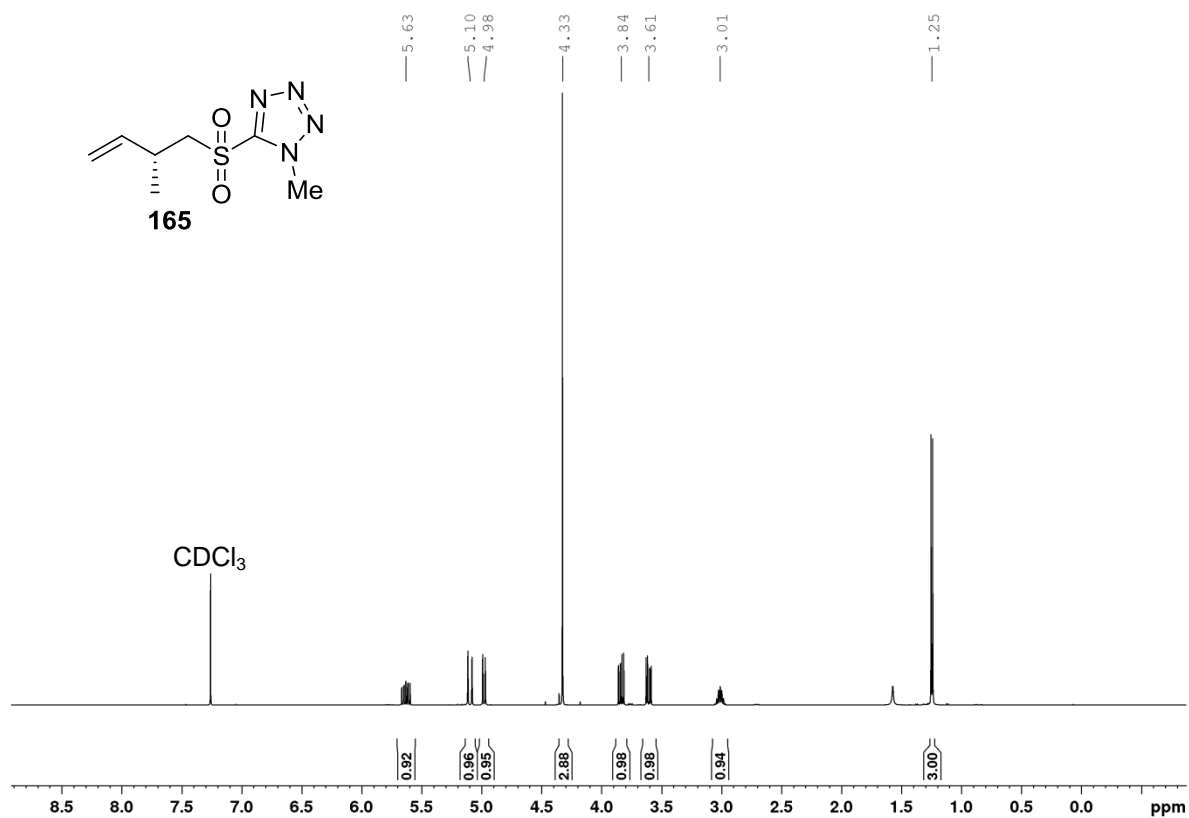
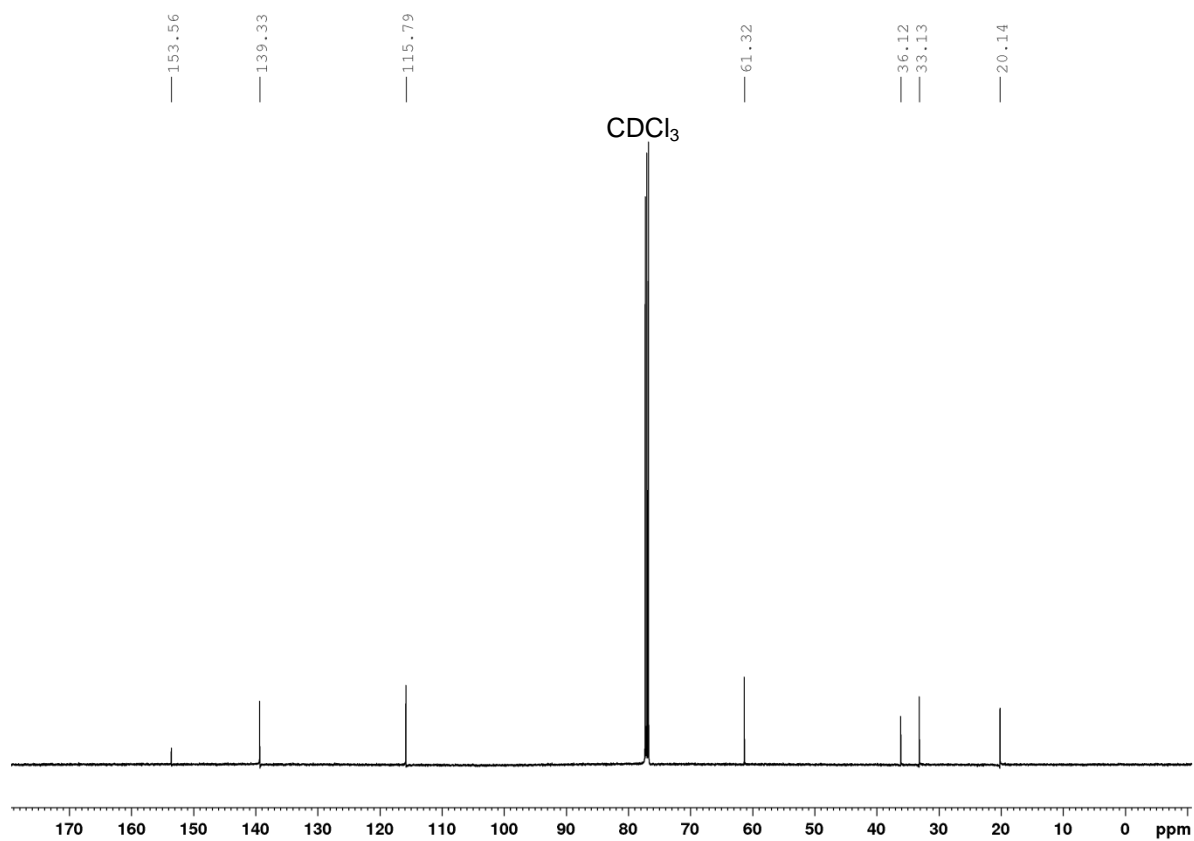
<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

**(R)-2-Methylbut-3-en-1-ol (109)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

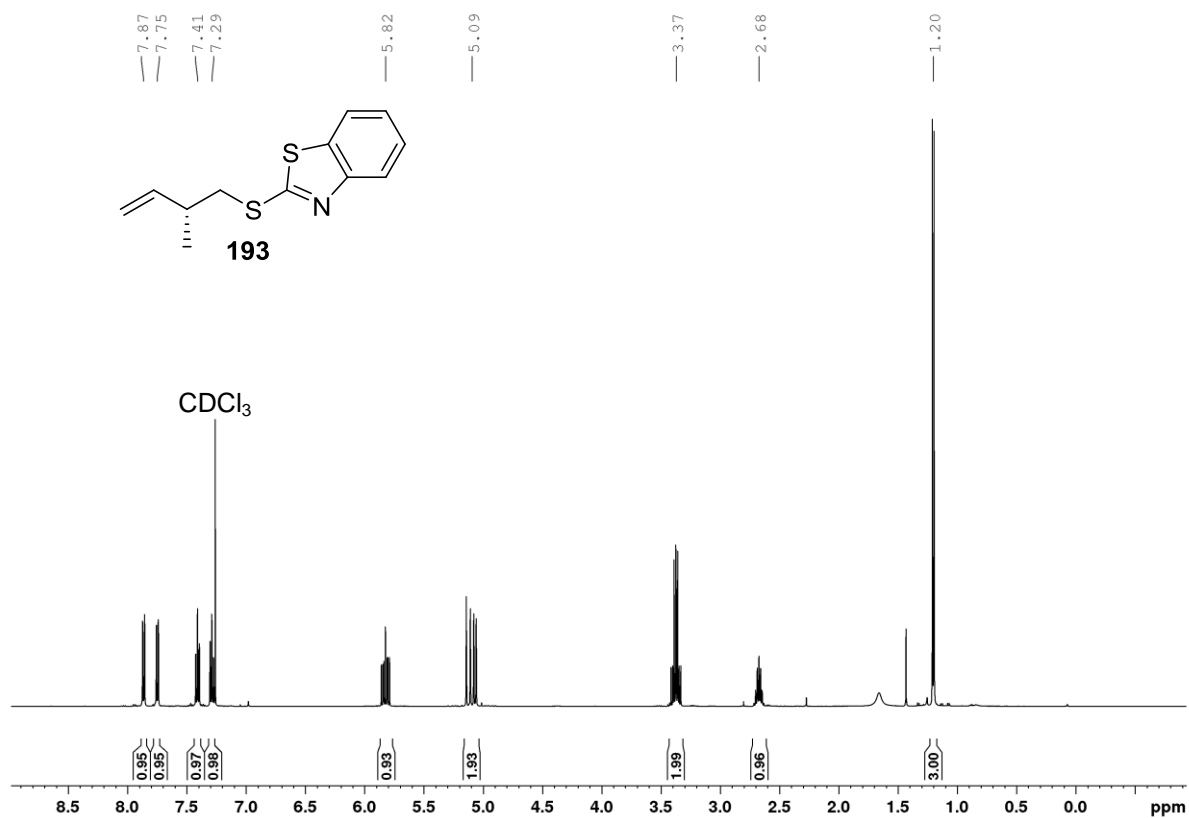
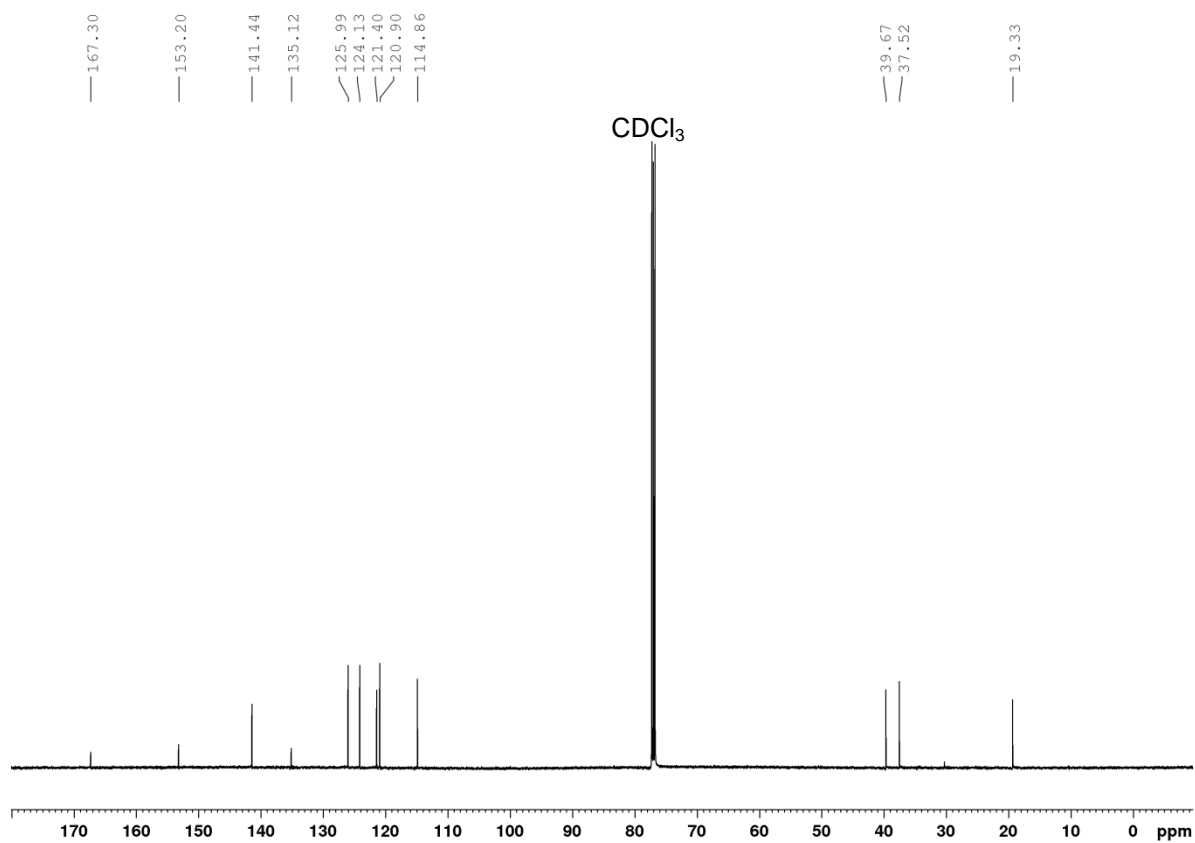
**(R)-5-((2-Methylbut-3-en-1-yl)thio)-1-phenyl-1-*H*-tetrazol (160)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

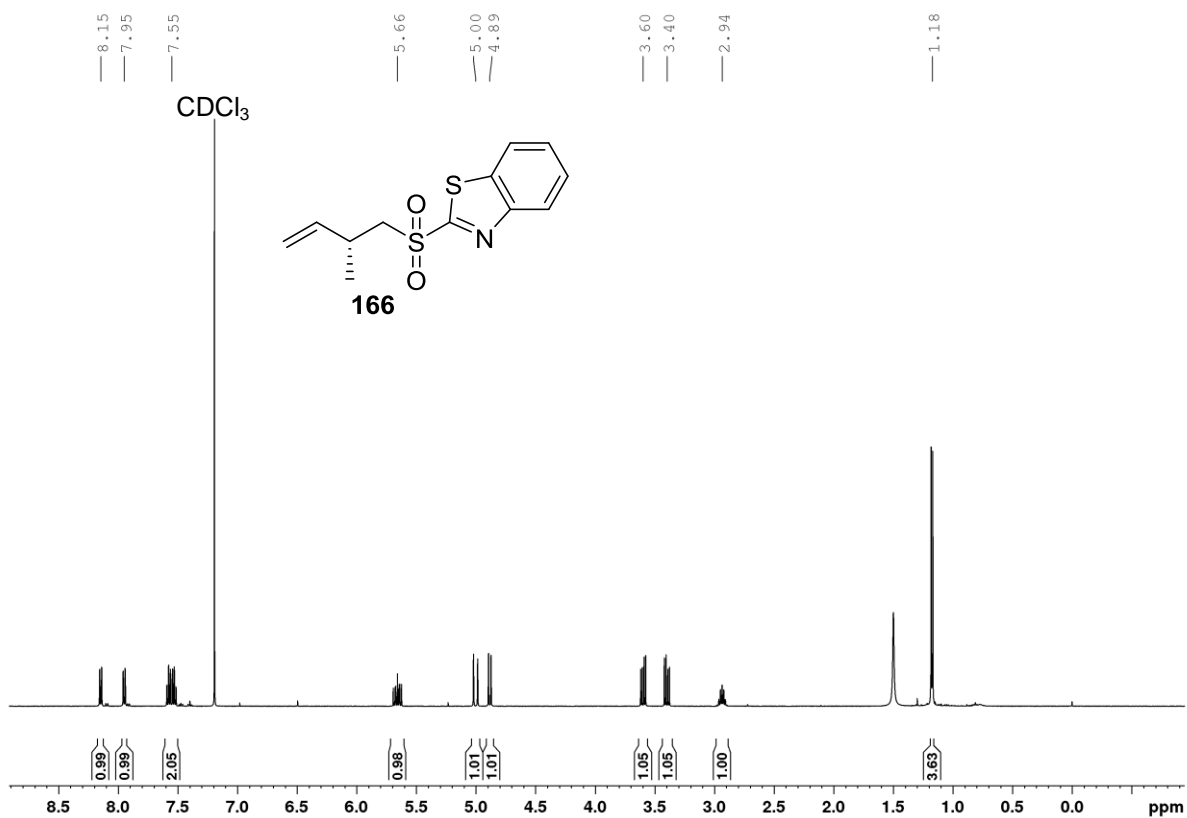
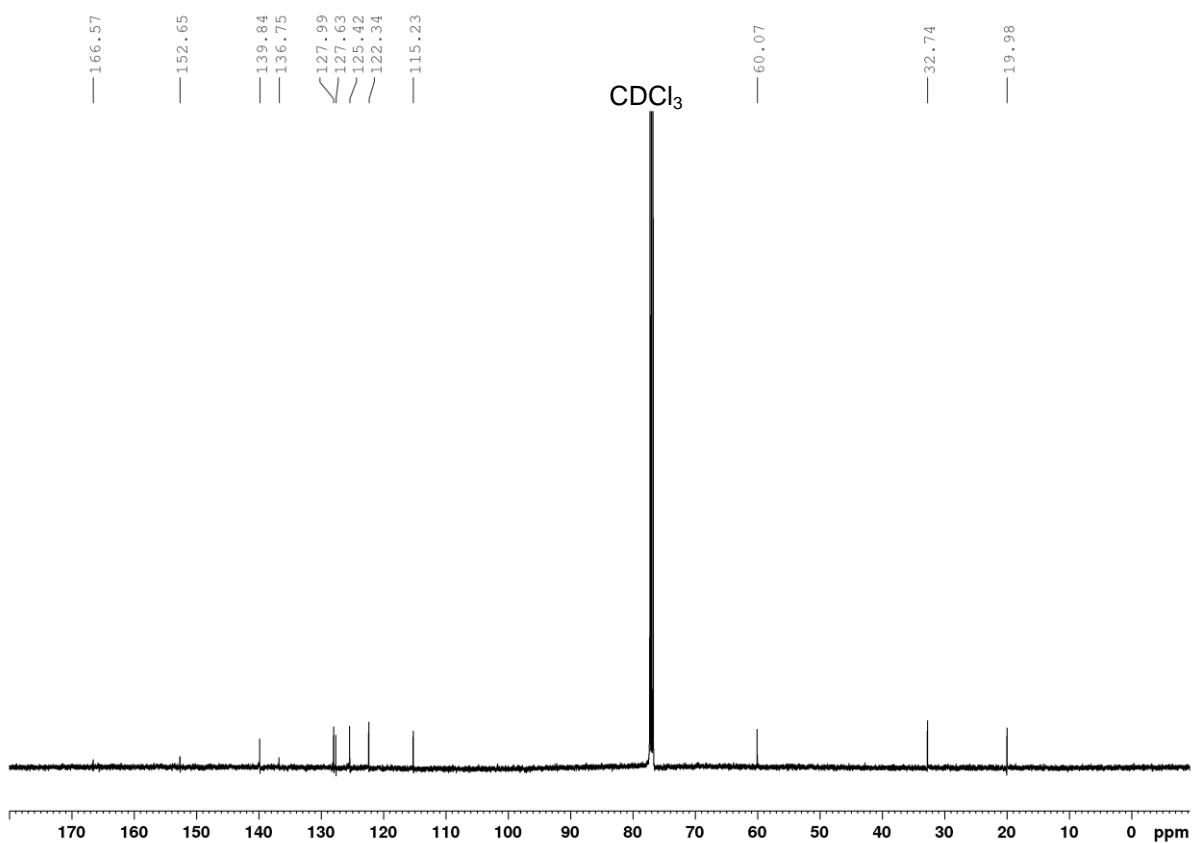
**(R)-5-((2-Methylbut-3-en-1-yl)sulfonyl)-1-phenyl-1-*H*-tetrazol ((R)-97)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(R)-1-Methyl-5-((2-methylbut-3-en-1-yl)thio)-1H-tetrazol (192)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(R)-1-Methyl-5-((2-methylbut-3-en-1-yl)sulfonyl)-1H-tetrazol (165)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

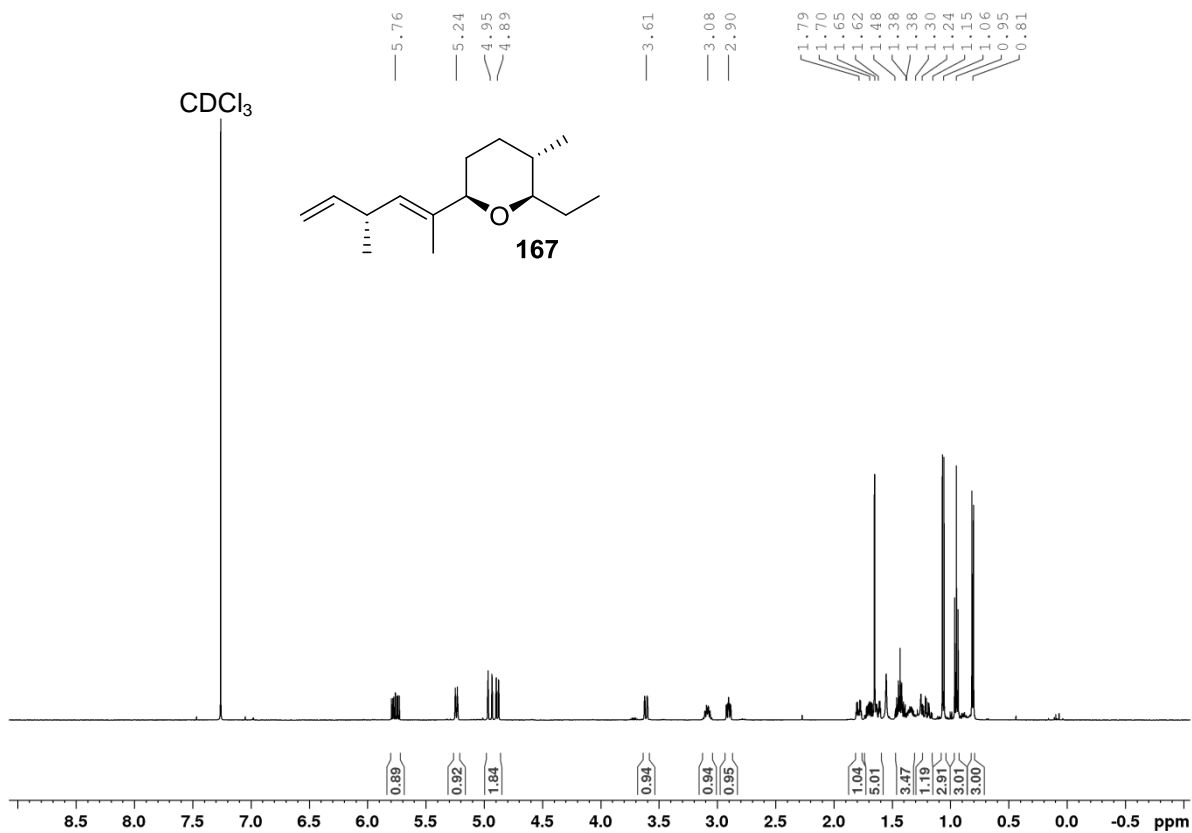


**(R)-2-((2-Methylbut-3-en-1-yl)thio)benzothiazol (193)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

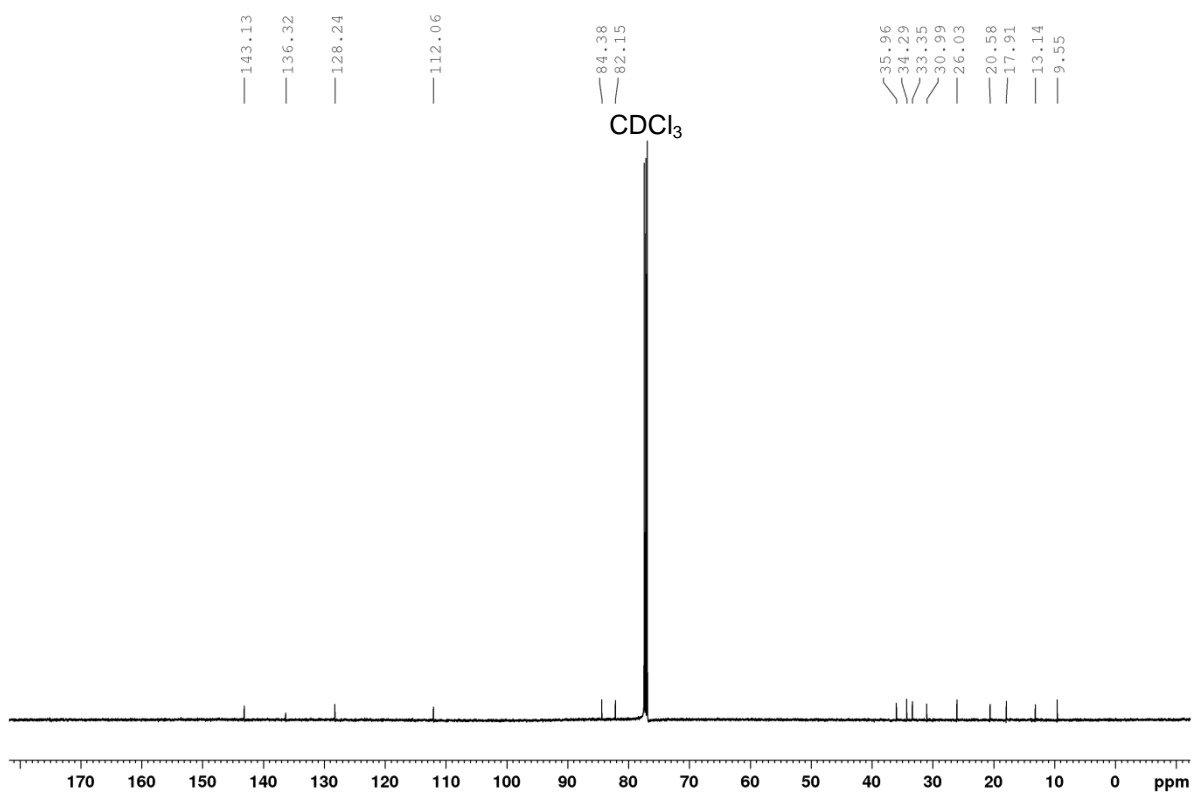
**(R)-2-((2-Methylbut-3-en-1-yl)sulfonyl)benzothiazol (166)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(2*R*,3*S*)-2-Ethyl-3-methyl-6-((*R,E*)-4-methylhexa-2,5-dien-2-yl)tetrahydro-2*H*-pyran (167)**

<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

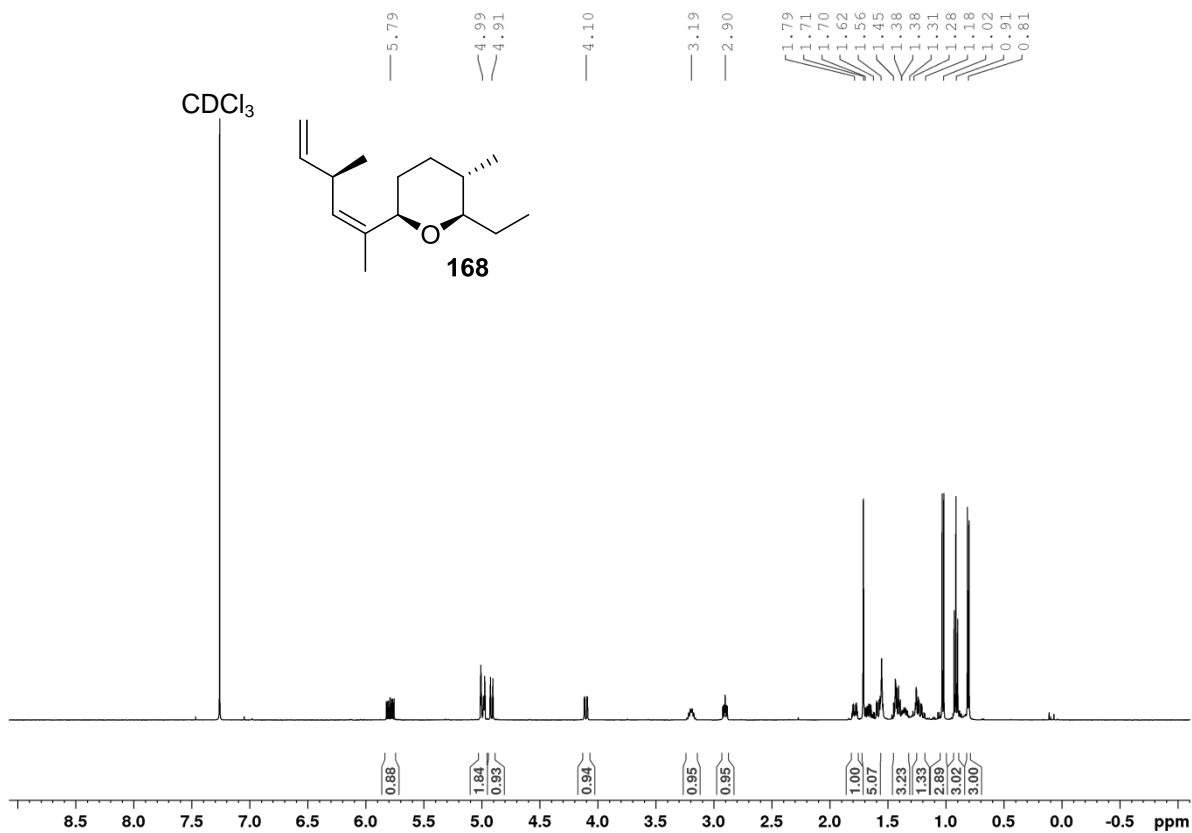


<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

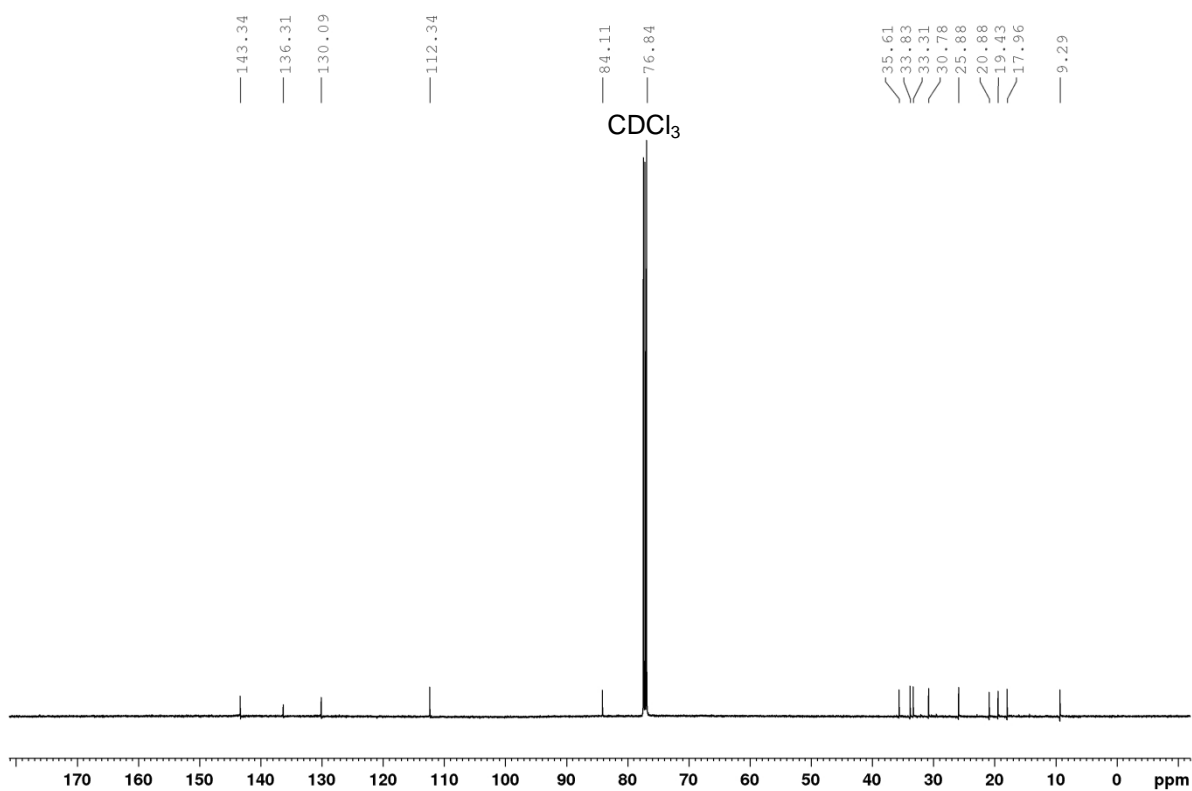


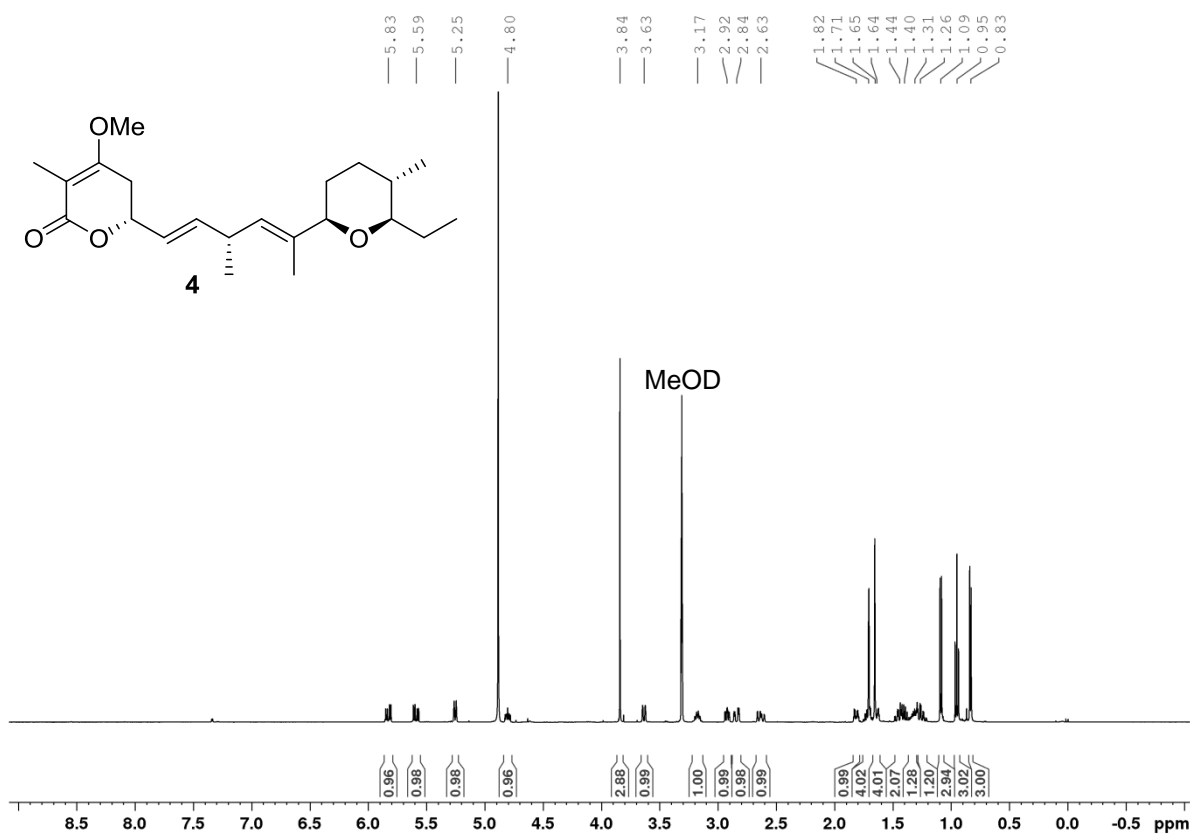
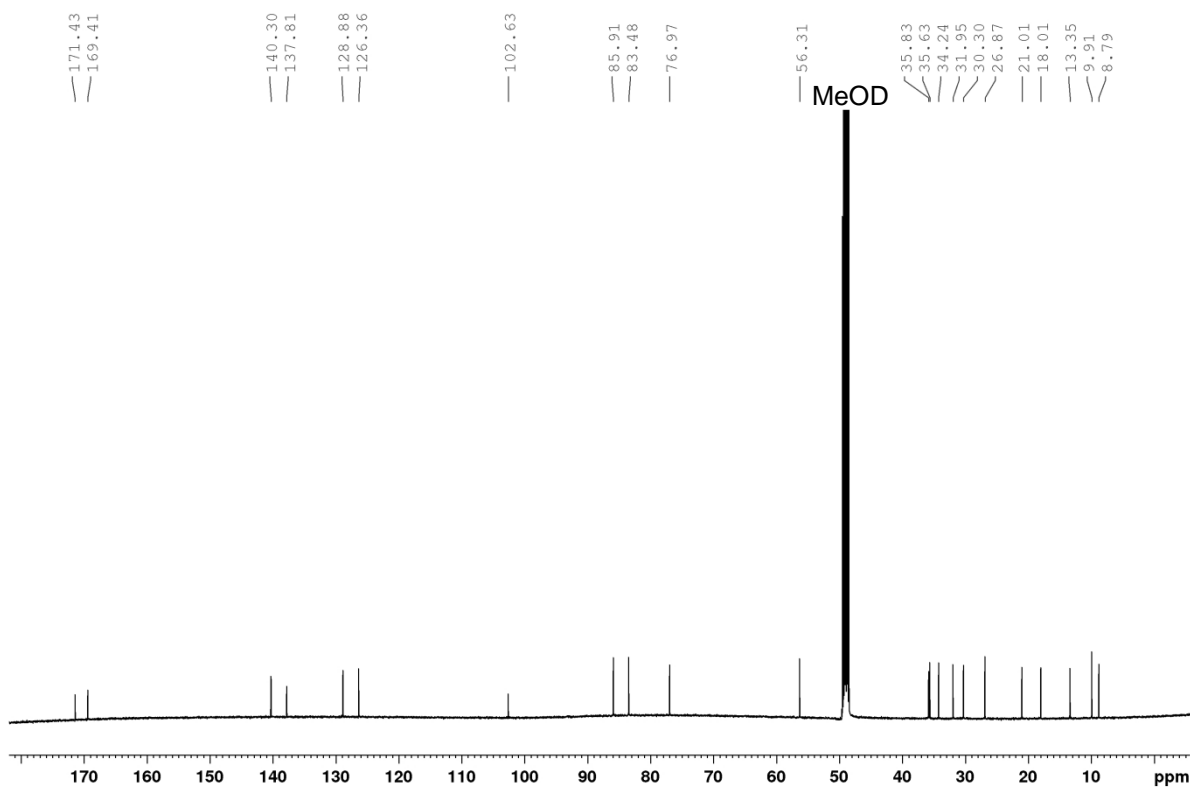
**(2*R*,3*S*)-2-Ethyl-3-methyl-6-((*R*,*Z*)-4-methylhexa-2,5-dien-2-yl)tetrahydro-2*H*-pyran (168)**

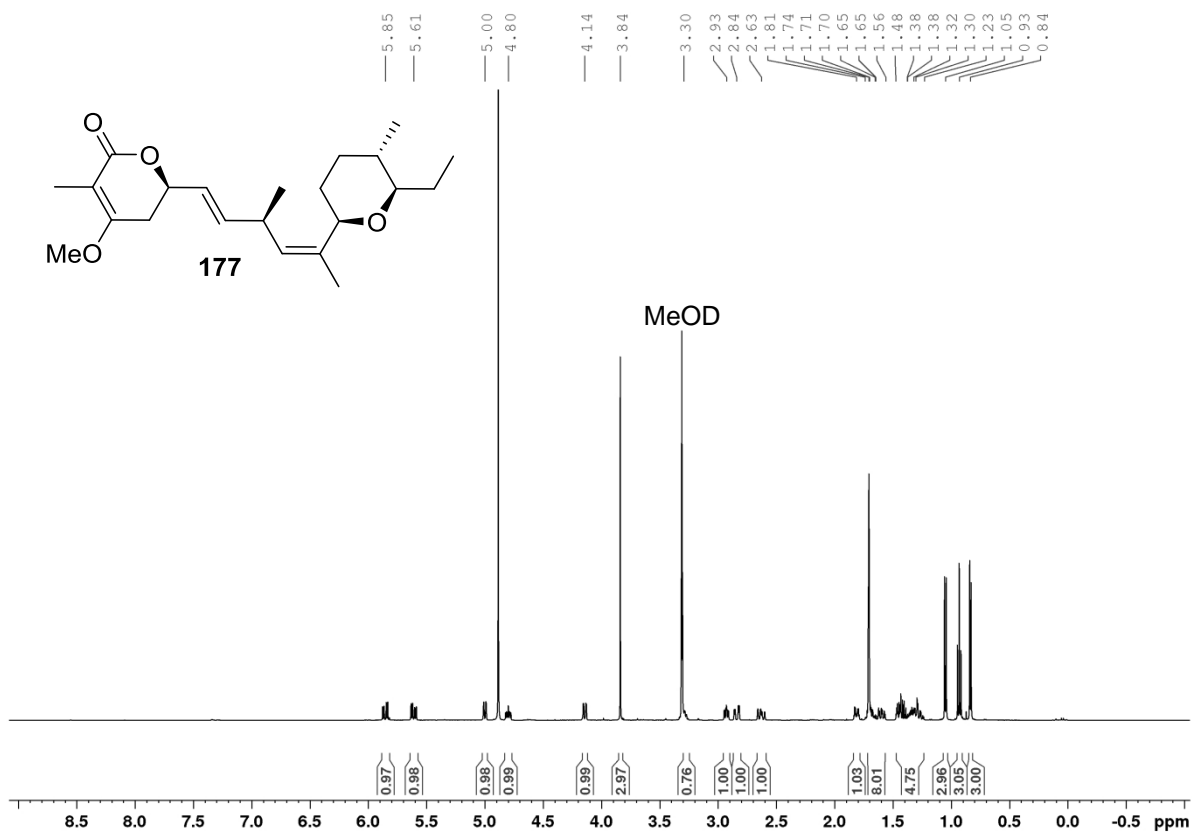
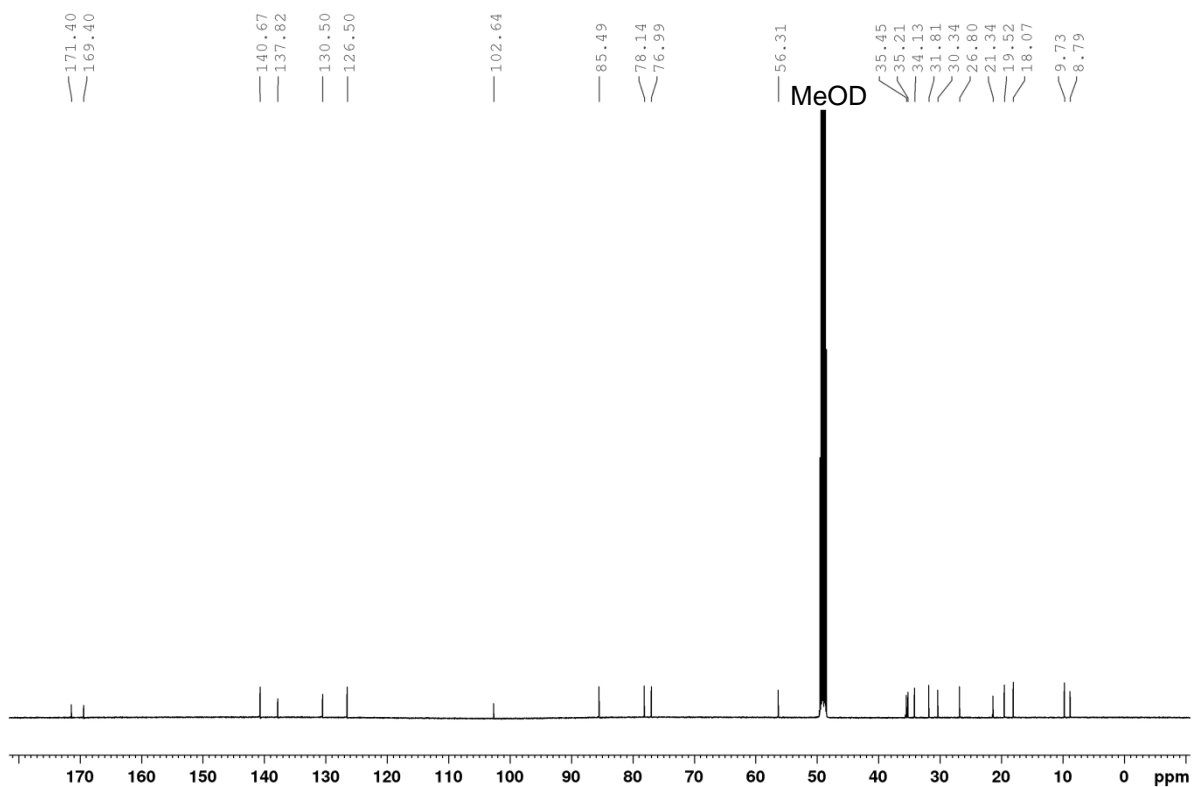
<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

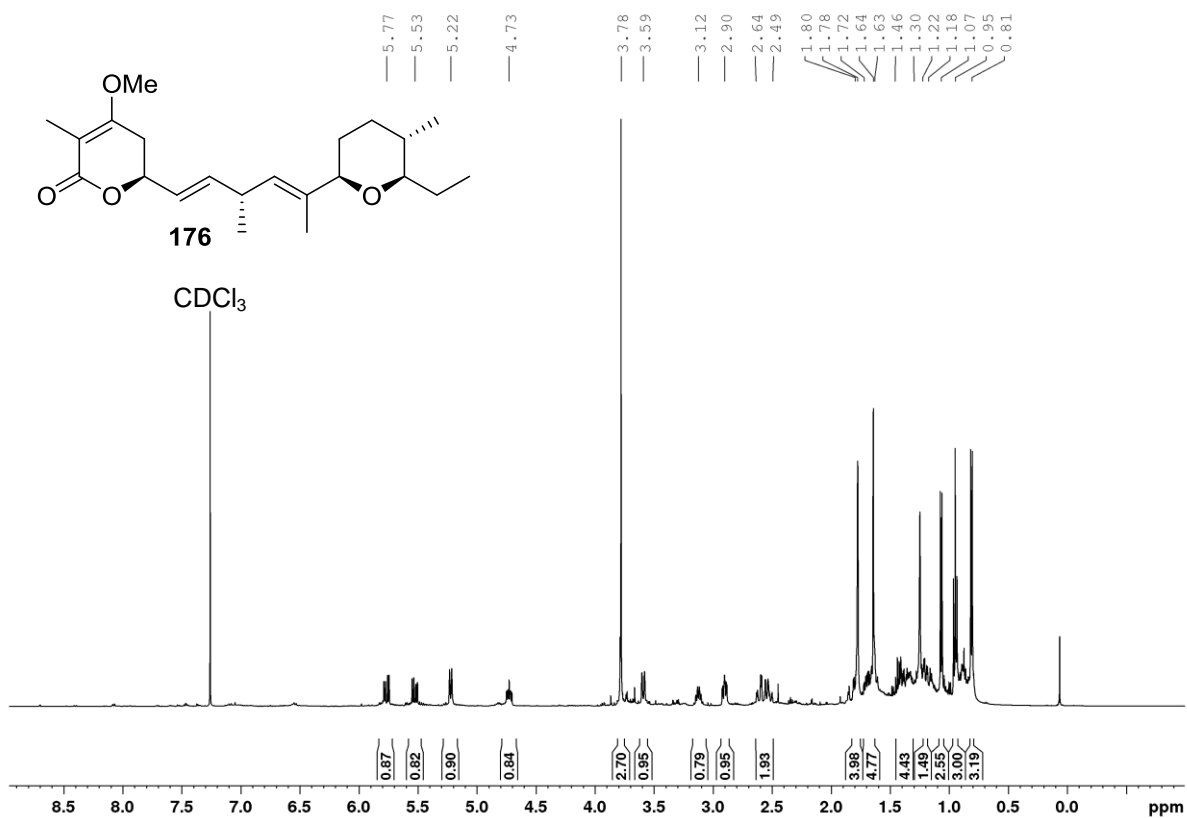
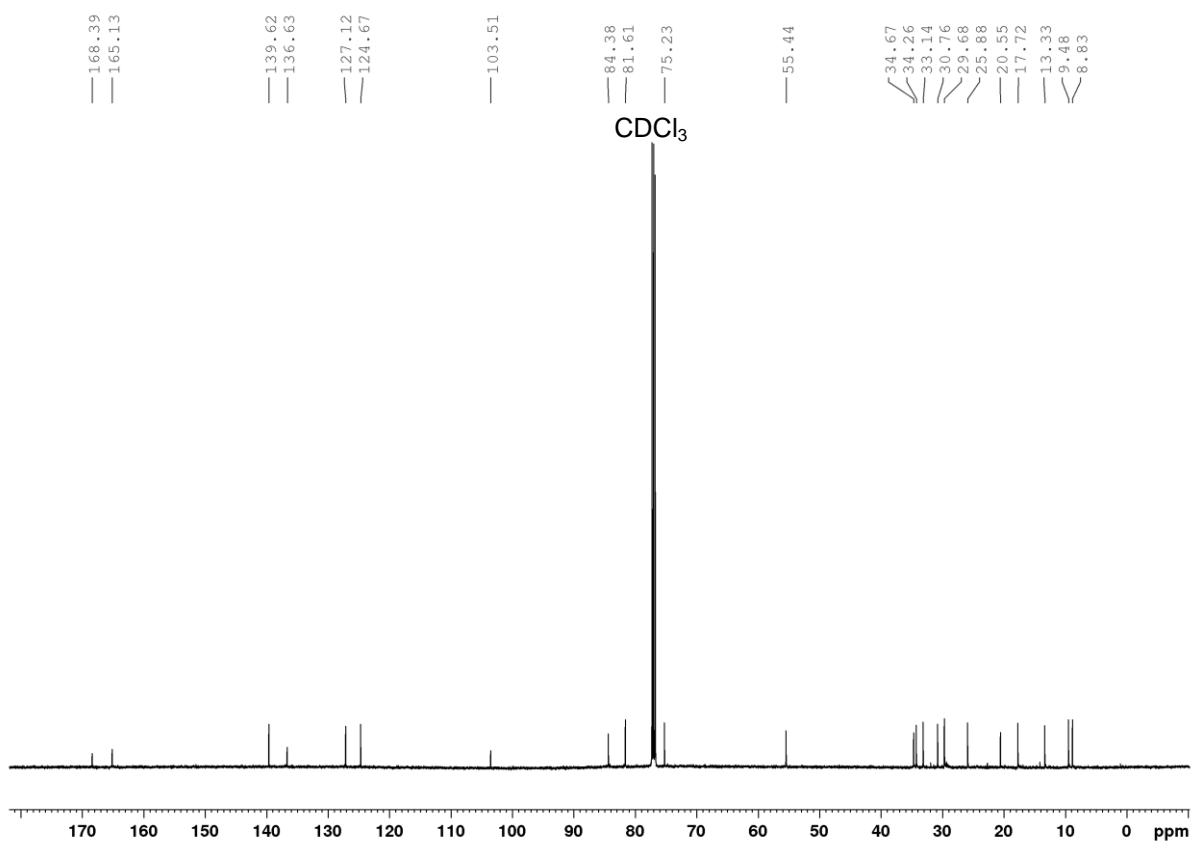


<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz



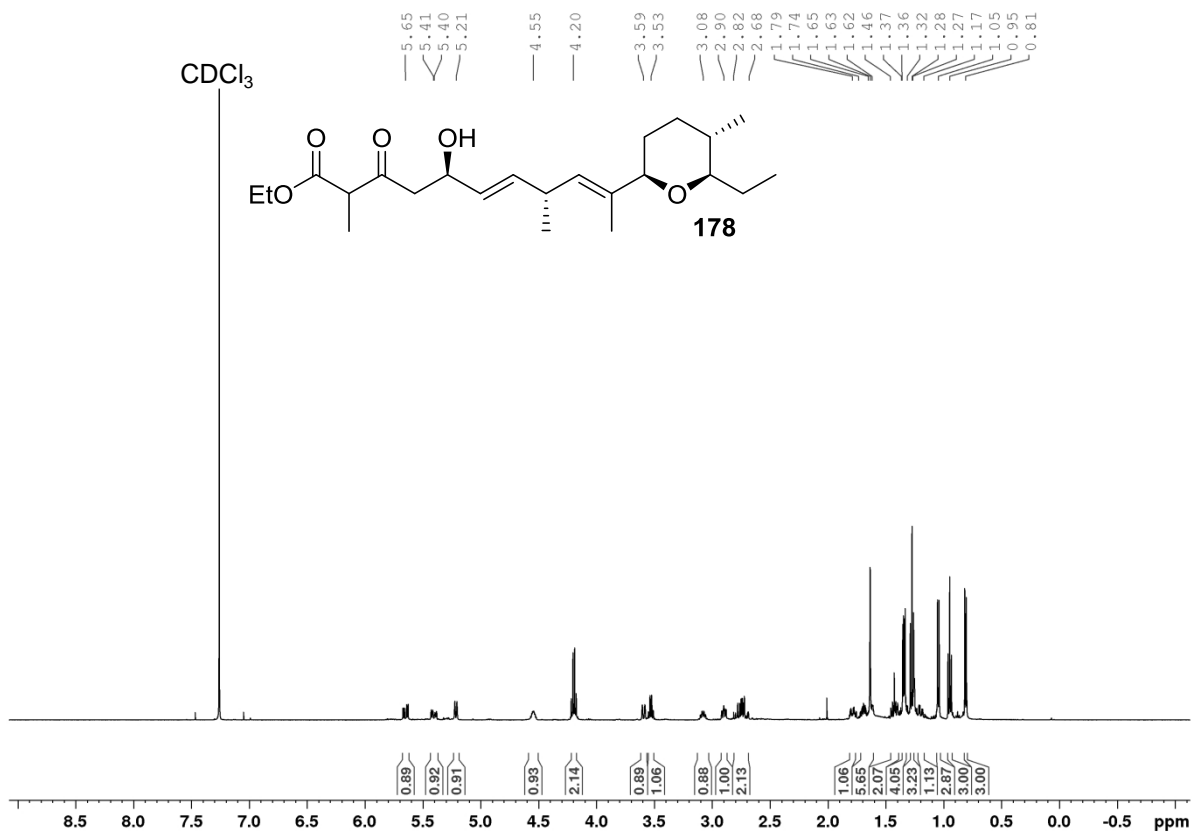
**Jerangolid *E* (4)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**9-(Z)-Jerangolid E (177)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

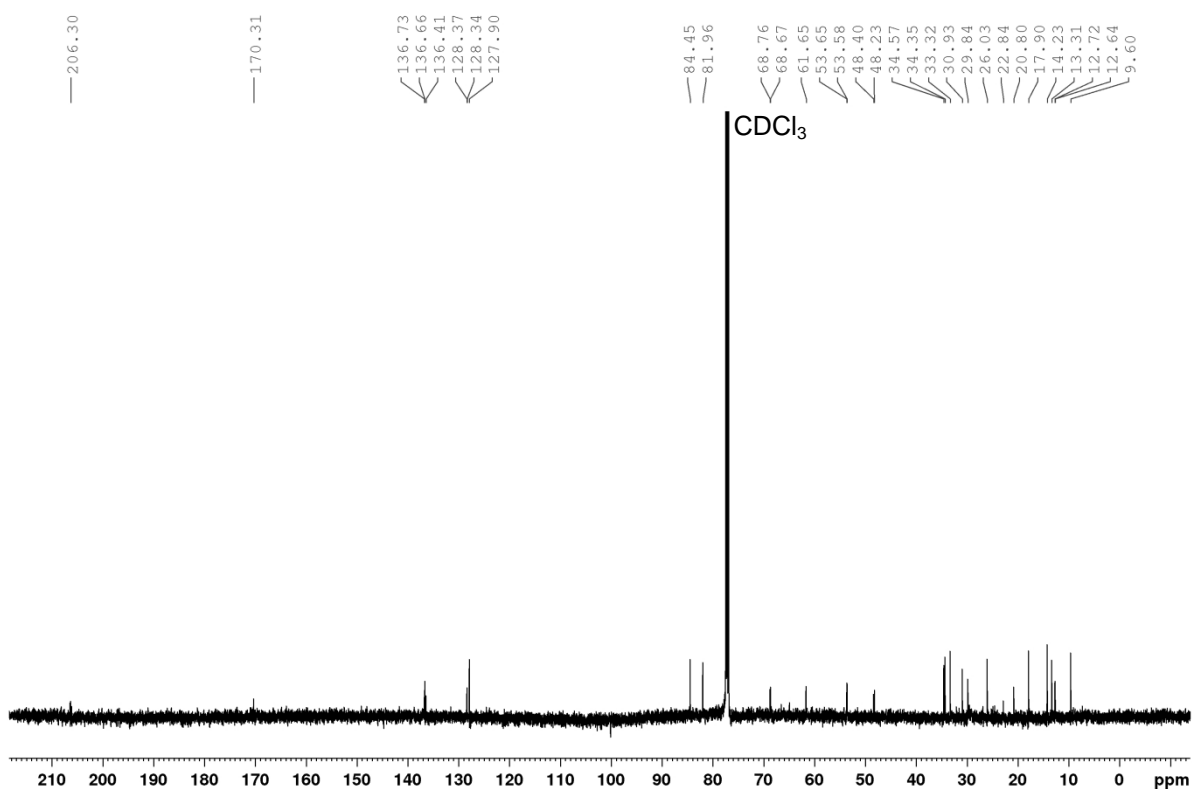
**5-*epi*-Jerangolid E (176)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**Ethyl-(5*R*,6*E*,8*R*,9*E*)-10-((5*S*,6*R*)-6-ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-5-hydroxy-2,8-dimethyl-3-oxoundeca-6,9-dienoat (178)**

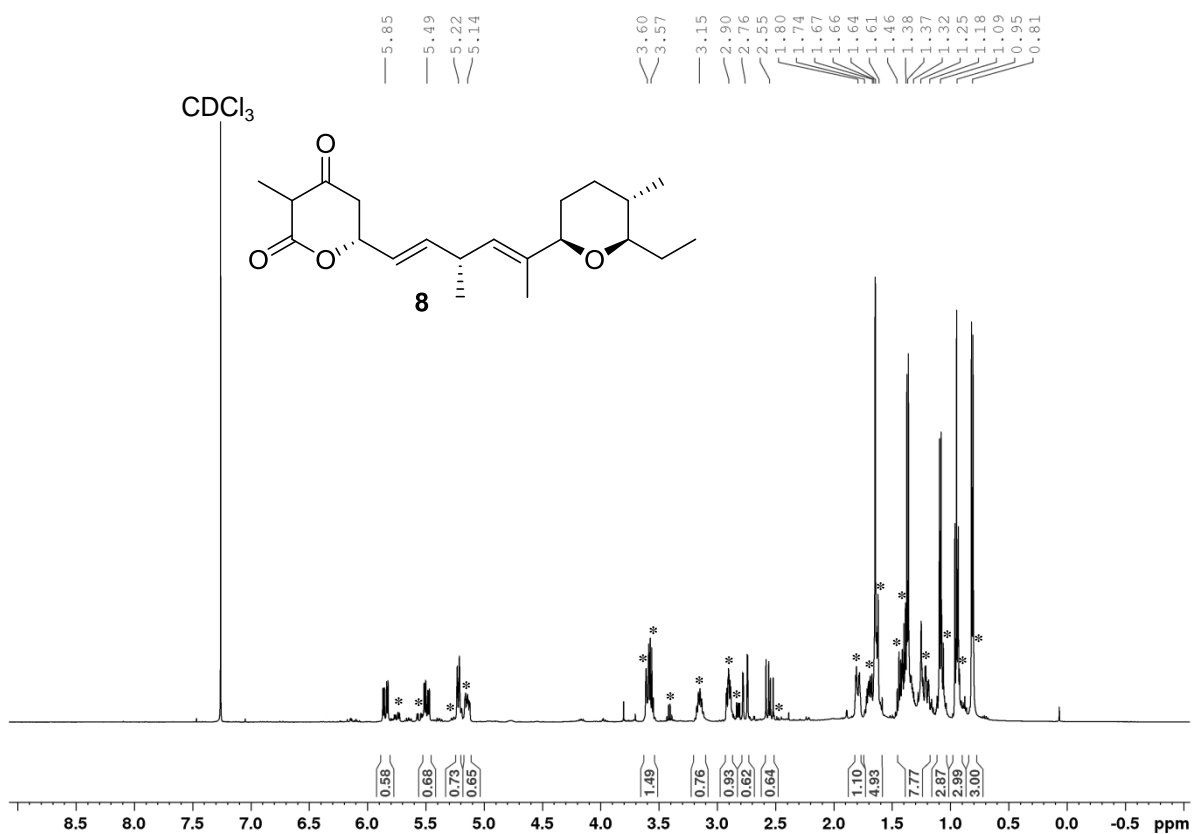
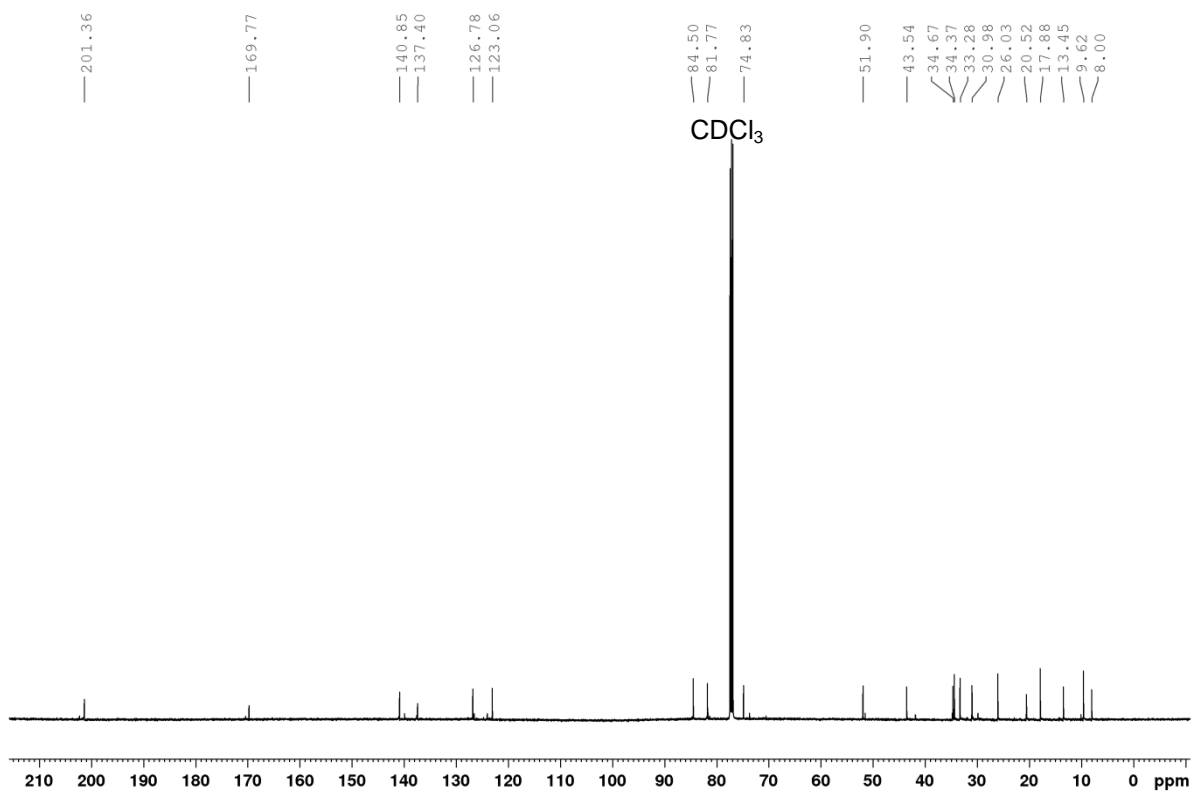
<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz



<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

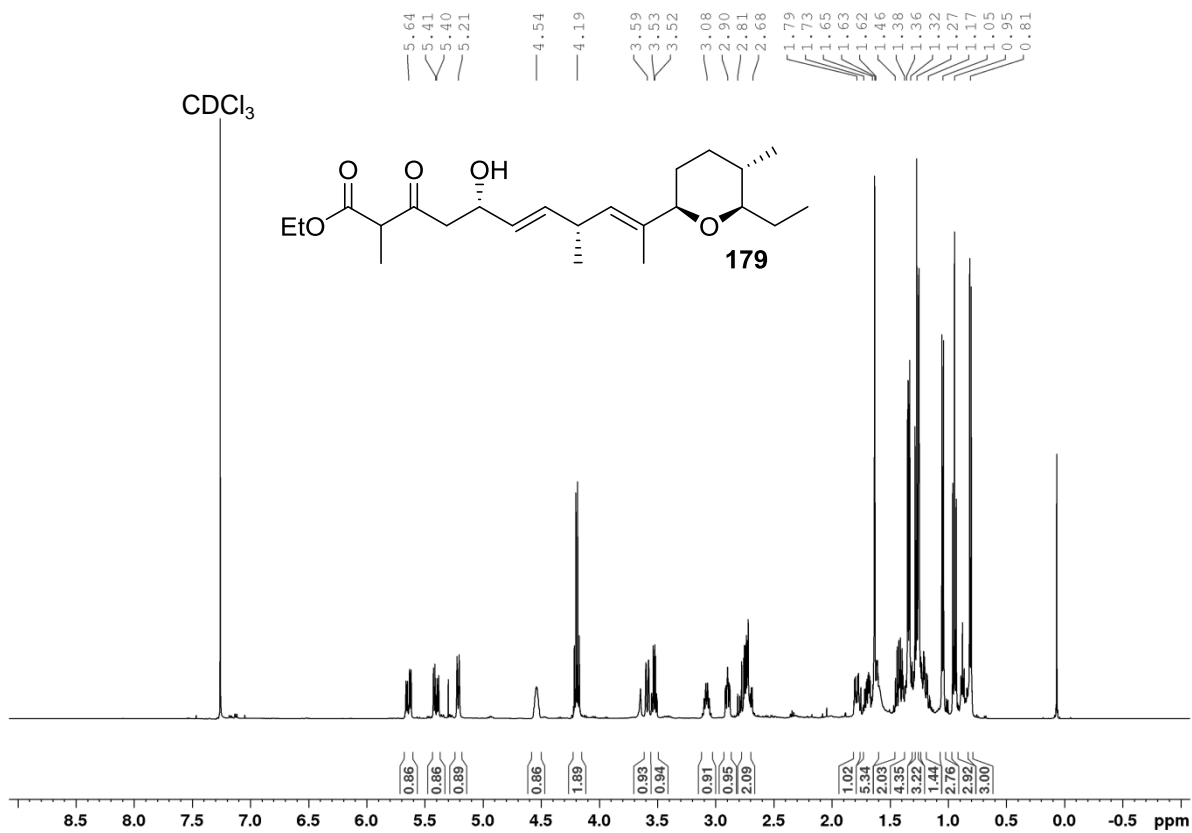




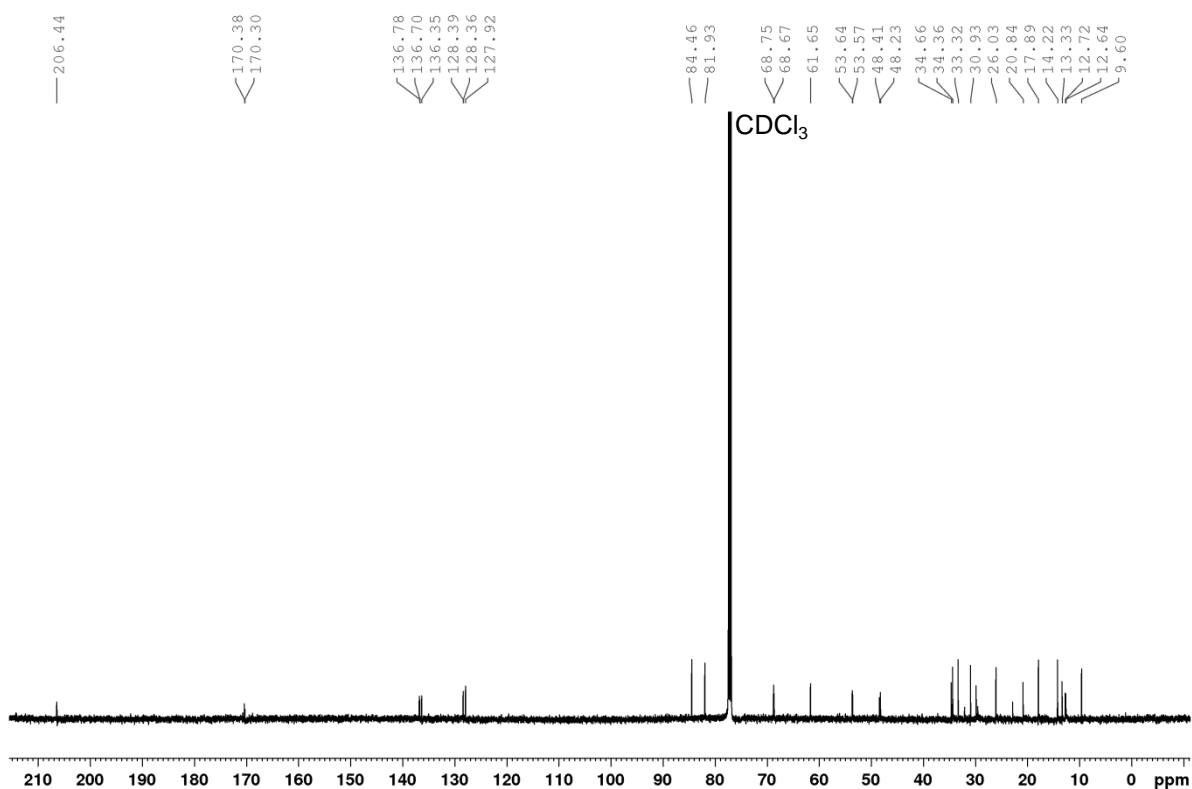
**Projerangolid (8)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

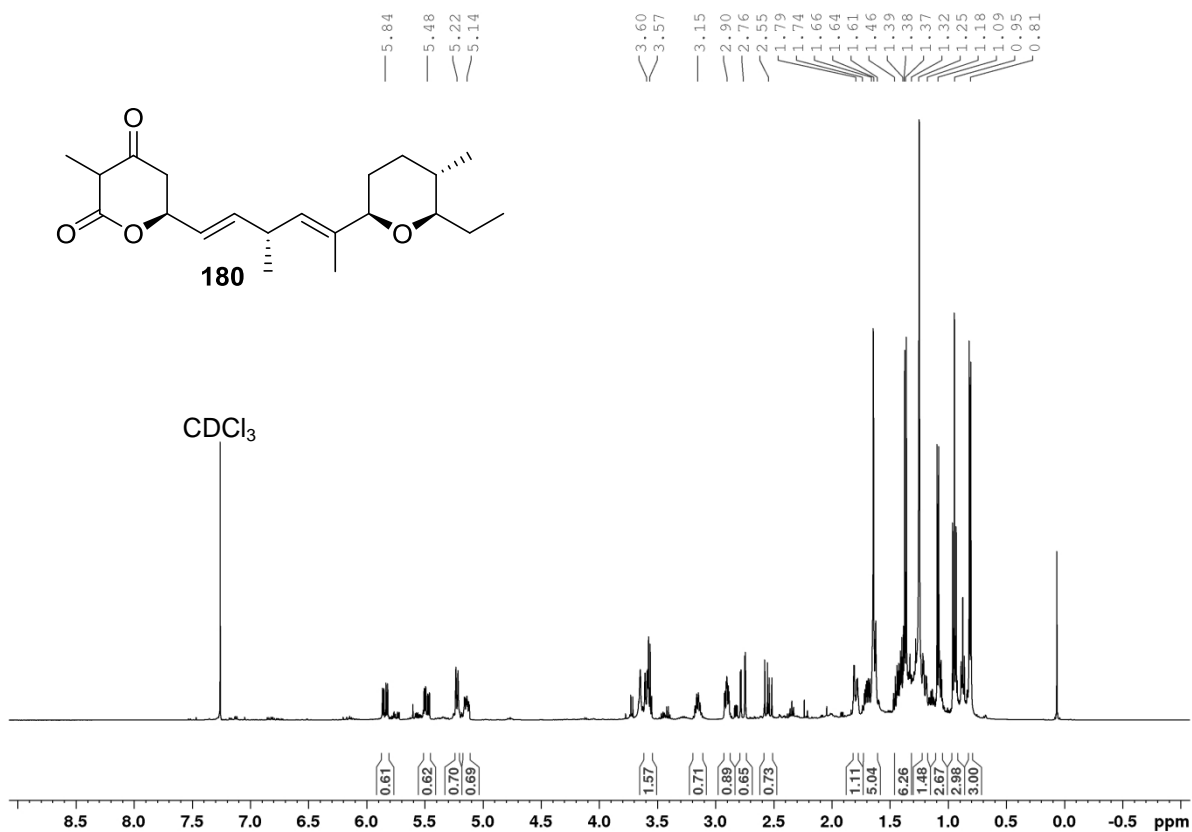
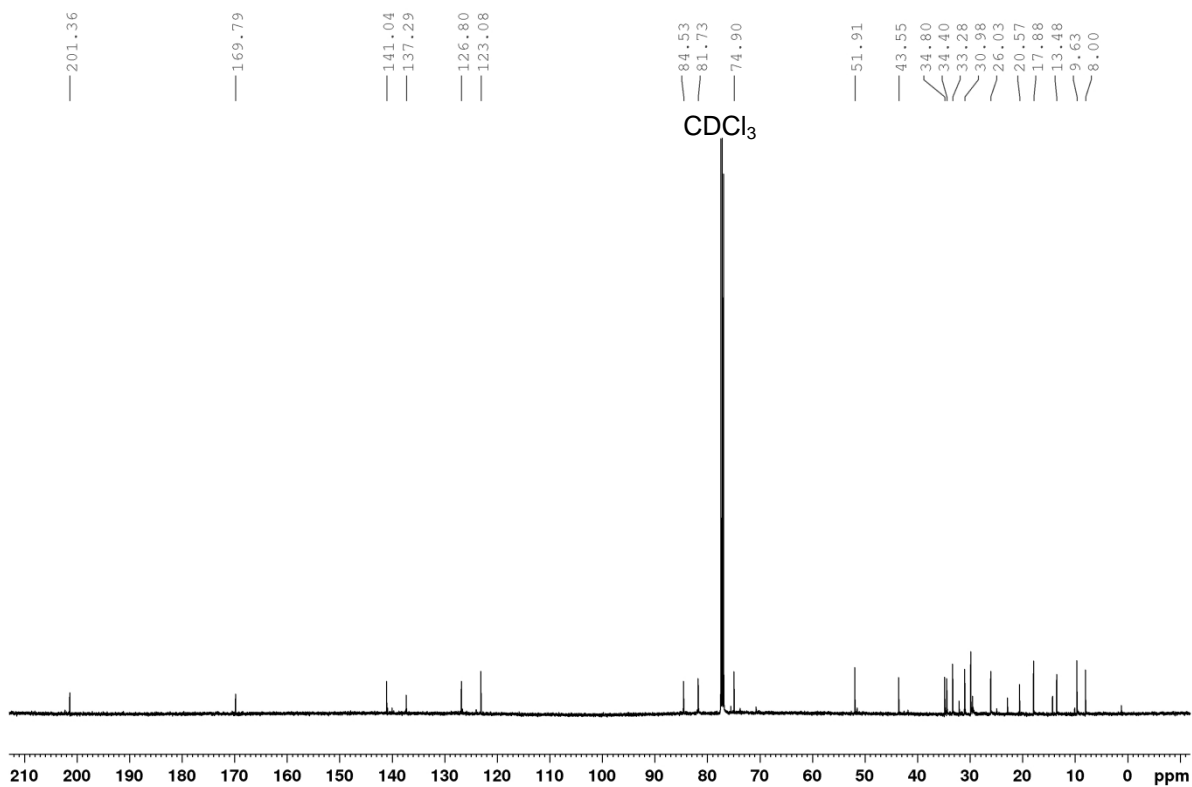
**Ethyl-(5*S*,6*E*,8*R*,9*E*)-10-((5*S*,6*R*)-6-ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-5-hydroxy-2,8-dimethyl-3-oxoundeca-6,9-dienoat (179)**

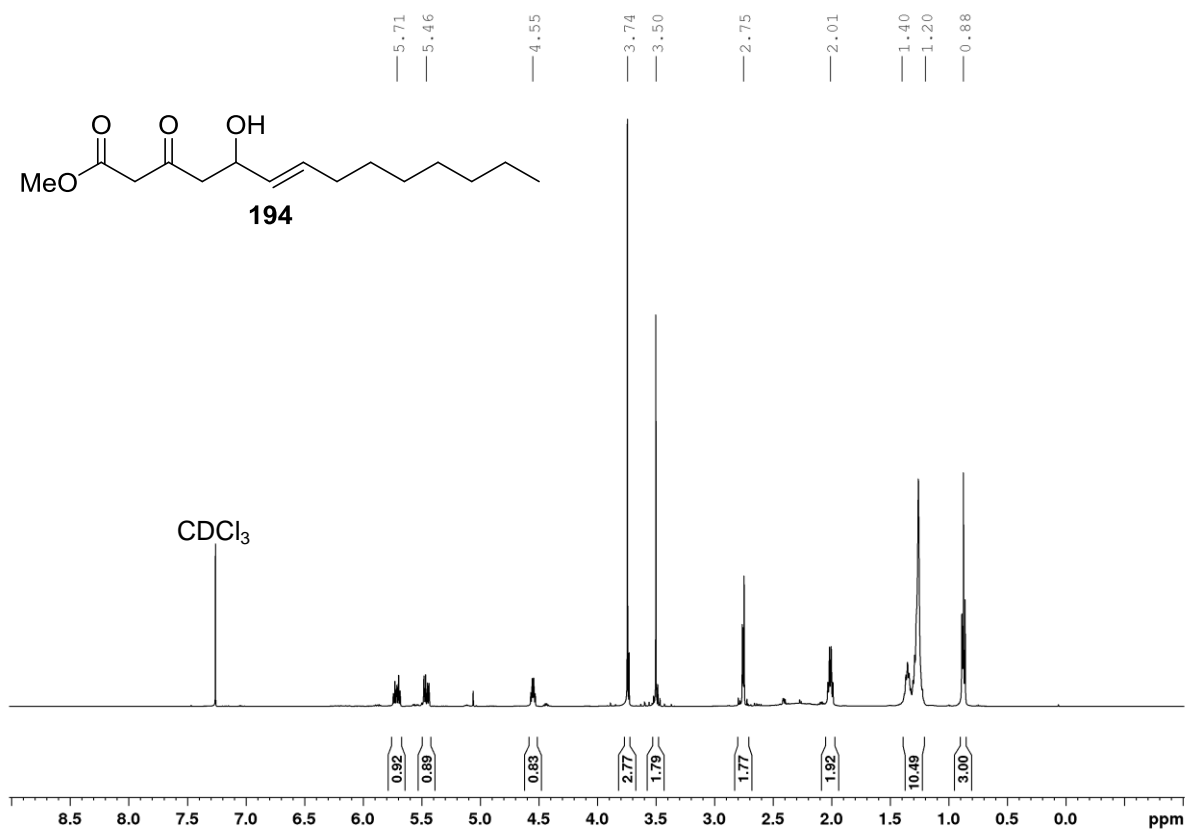
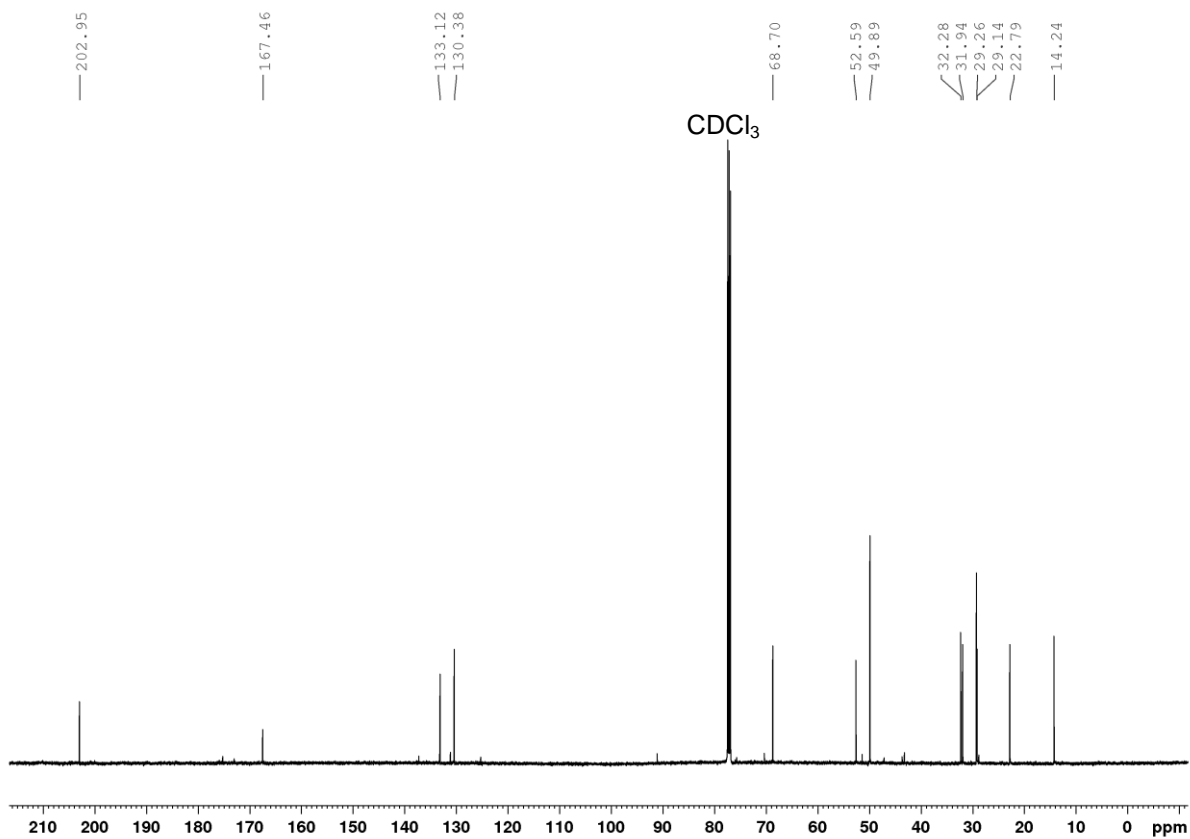
<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz

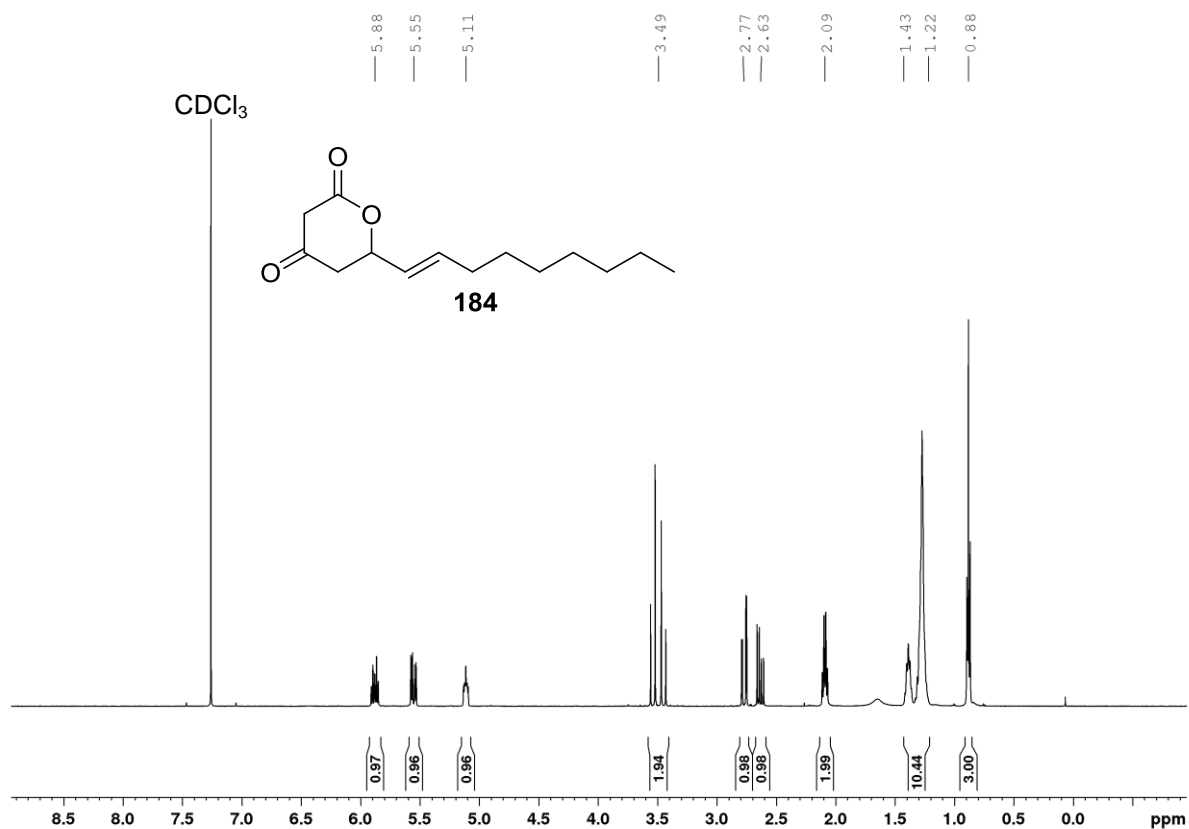
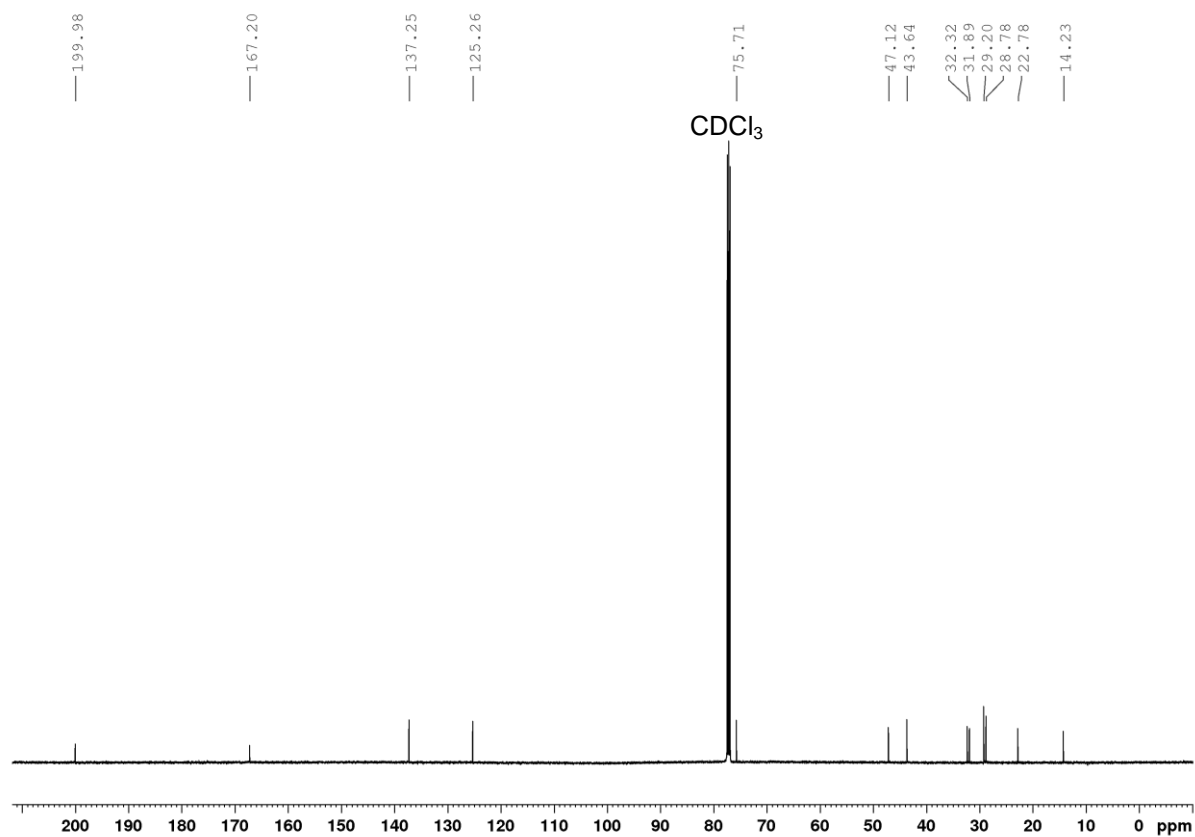


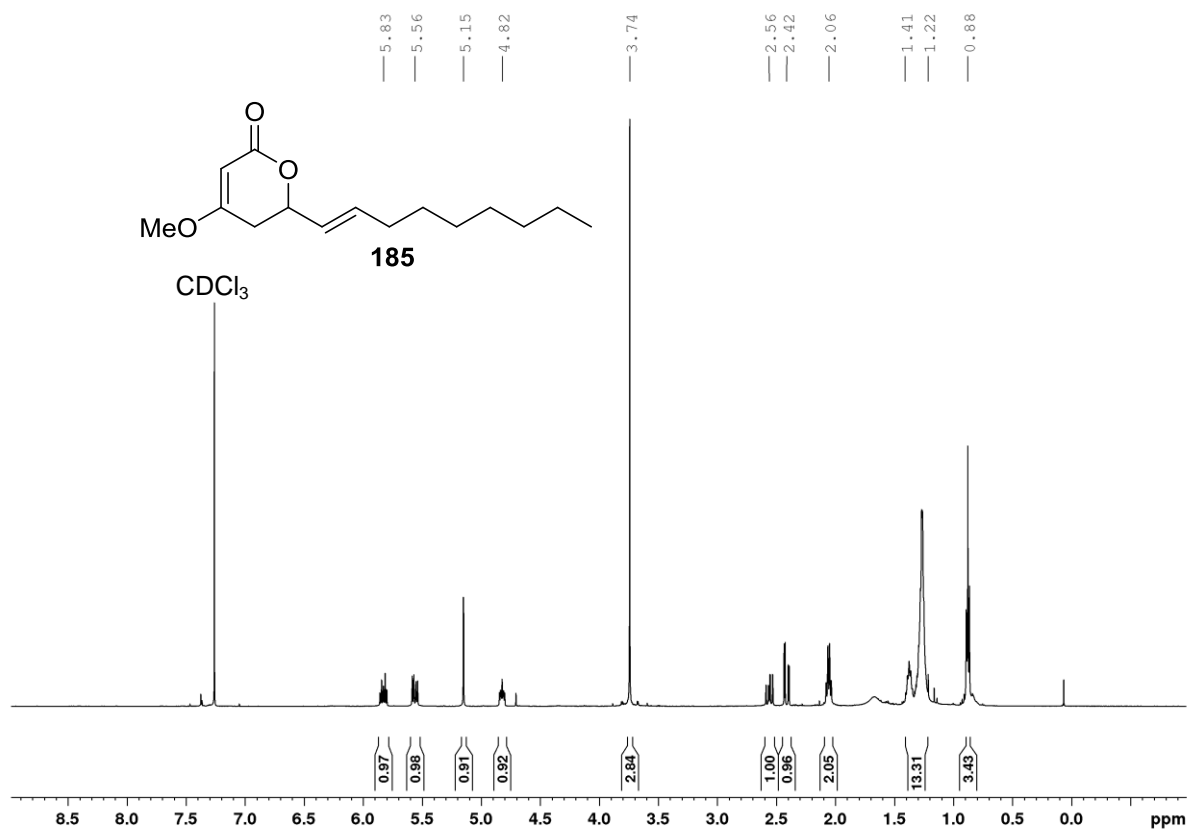
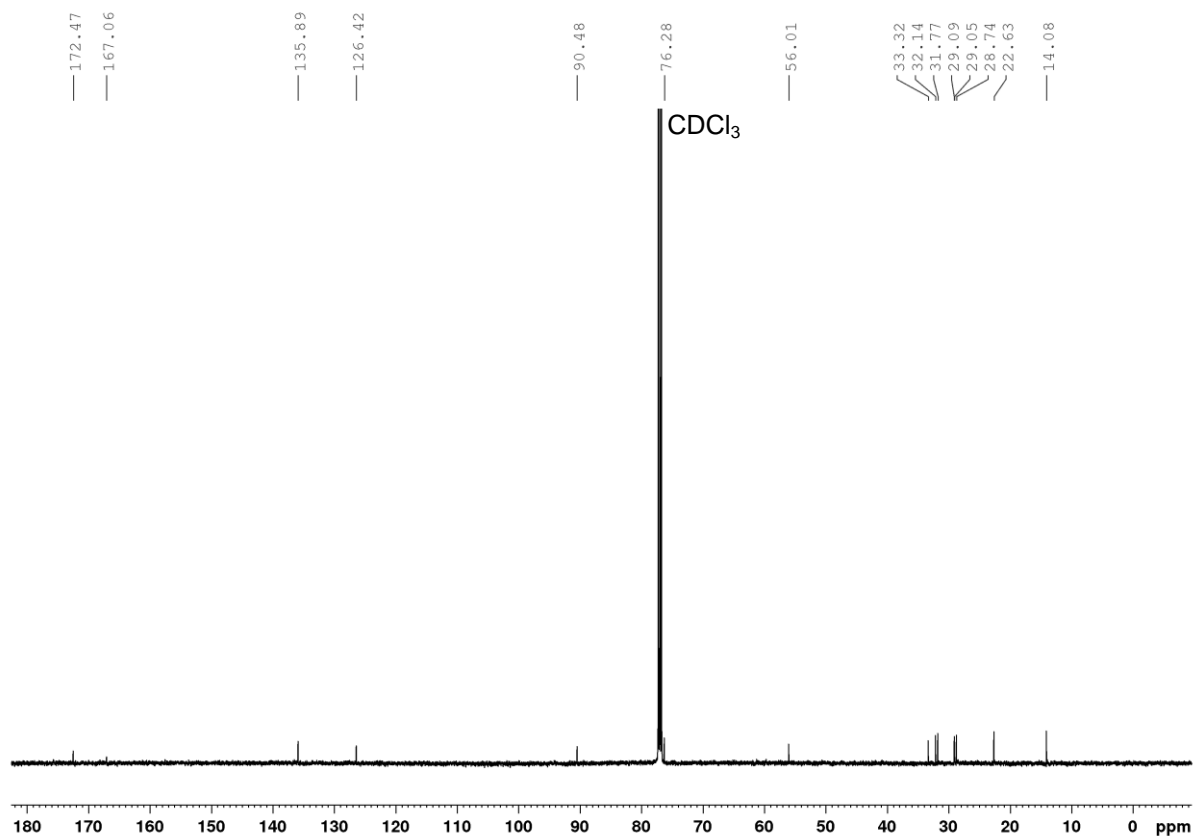
<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz



**5-*epi*-Projerangolid (180)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**Methyl-(*E*)-5-hydroxy-3-oxotetradec-6-enoat (194)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(E)-6-(non-1-en-yl)dihydro-2H-pyran-2,4(3H)-dion (184)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

**(E)-4-Methoxy-6-(non-1-en-1-yl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on (185)**<sup>1</sup>H-NMR 500 MHz<sup>13</sup>C-NMR 125 MHz

## Danksagung

Zu allererst möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Frank Hahn danken für die Unterstützung und das Vertrauen während meiner Promotionszeit. Bei Prof. Dr. Carlo Unverzagt bedanke ich mich für die Übernahme der Zweitprüferschaft.

Bei den Mitarbeitern der Analytikabteilungen in Hannover und Bayreuth bedanke ich mich ebenso wie bei allen technischen Mitarbeitern. Der gesamten Einkaufsabteilung möchte ich danken für die reibungslosen Abläufe, gerade zur Anfangszeit in Bayreuth. Für die Hilfe bei organisatorischen Fragen möchte ich den Sekretariaten im OCI, BMWZ und der Universität Bayreuth danken.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinen ehemaligen Laborkollegen Dr. Gesche Berkhan, Dr. Steffen Friedrich, Hendrik Geise, Dr. Franziska Hemmerling und Dr. Nadine Kandziora für die unterhaltsame Zeit in und außerhalb des Labors in Hannover. Des Weiteren danke ich Dr. Gerrit Jürjens und Dr. Michael Wolling für die zahlreichen hilfreichen Gespräche. Ebenfalls bedanke ich mich bei Andreas Peil für seinen unschätzbaren Beitrag zu dieser Arbeit.

Ein großer Dank gilt auch meinen Kollegen Tim Hollmann, Marius Schröder, Lisa Wagner und Johannes Wunderlich für die gemeinsame Zeit, die vielen coolen Aktionen außerhalb des Labors in Bayreuth und das Korrekturlesen dieser Arbeit. Mein Dank gilt ebenso der neuen Generation der Los Pollos Diablos, Theresa Ross und Florian Guth. Speziell Tim danke ich für die gemeinsame Zeit im Labor, die unzähligen Diskussionen und die musikalische Untermalung der Spätschichten.

Zu guter Letzt möchte ich mich von ganzem Herzen bei meiner Familie bedanken.

## **(Eidesstattliche) Versicherungen und Erklärungen**

(§ 8 Satz 2 Nr. 3 PromO Fakultät)

*Hiermit versichere ich eidesstattlich, dass ich die Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe (vgl. Art. 64 Abs. 1 Satz 6 BayHSchG).*

(§ 8 Satz 2 Nr. 3 PromO Fakultät)

*Hiermit erkläre ich, dass ich die Dissertation nicht bereits zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht habe und dass ich nicht bereits diese oder eine gleichartige Doktorprüfung endgültig nicht bestanden habe.*

(§ 8 Satz 2 Nr. 4 PromO Fakultät)

*Hiermit erkläre ich, dass ich Hilfe von gewerblichen Promotionsberatern bzw. –vermittlern oder ähnlichen Dienstleistern weder bisher in Anspruch genommen habe noch künftig in Anspruch nehmen werde.*

(§ 8 Satz 2 Nr. 7 PromO Fakultät)

*Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, dass die elektronische Fassung der Dissertation unter Wahrung meiner Urheberrechte und des Datenschutzes einer gesonderten Überprüfung unterzogen werden kann.*

(§ 8 Satz 2 Nr. 8 PromO Fakultät)

*Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, dass bei Verdacht wissenschaftlichen Fehlverhaltens Ermittlungen durch universitätsinterne Organe der wissenschaftlichen Selbstkontrolle stattfinden können.*

.....

Ort, Datum, Unterschrift